FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1937 N°.....

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplôme d'Etat)

PAR

THIEFFRY (Stéphane-Emile-Elisée)
Né à Lille (Nord) le 20 Mars 1910
Interne des Hôpitaux de Paris

LA TOXINE STAPHYLOCOCCIQUE

Étude Immunologique Clinique et Thérapeutique

President : M. Robert DEBRÉ
Professeur de Bactériologie à la Faculté de Médecine
Membre de l'Académie de Médecine
Médecin de l'Hôpital Hérold

Travail du Laboratoire de Bactériologie
de la Faculté de Médecine de Paris
(Professeur Robert DEBRÉ)

Chez Victor DEGRANGE
28, rue Serpente
(Hôtel des Sociétés Savantes)
PARIS (6e)

1937

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40154806_0007

LE DOYEN . . . . . ROUSSY

I. — PROFESSEURS

	MM.
Anatomie	Rouvière.
Physiologie	Léon Binet.
Physique médicale	Strohl.
Chimie médicale	Desgrez.
Bactériologie	Robert Debré.
Parasitologie et histoire naturelle médicale	Brumpt.
Pathologie médicale et générale	Baudouin.
Pathologie médicale	Abrami.
Pathologie chirurgicale	Chevassu.
Anatomie pathologique	Roussy.
Histologie	Champy.
Pharmacologie et matière médicale	Tiffeneau.
Thérapeutique	Harvier.
Hygiène et médecine préventive	Tanon.
Médecine légale	Balthazard.
Histoire de la médecine et de la chirurgie	Laignel-Lavastine
Pathologie expérimentale et comparée	Fiessinger.
Hydrologie thérapeutique et climatologie	Maurice Villaret.
Clinique médicale	Loeper. Carnot. Clerc. Marcel Labbé.
Hygiène et clinique de la première enfance	Lereboullet.
Clinique des maladies des enfants	Nobécourt.
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale	H. Claude.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	Gougerot.
Clinique des maladies du système nerveux	Guillain.
Clinique des maladies infectieuses	Lemierre.
Clinique chirurgicale	Cunéo. Gosset. Grégoire. Lenormant.
Clinique ophtalmologique	Terrien.
Clinique urologique	Marion.
Clinique d'accouchements	Brindeau. Couvelaire. Jeannin.
Clinique gynécologique	Mocquot.
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	Ombrédanne.
Clinique thérapeutique médicale	Rathery.
Clinique oto-rhino-laryngologique	Lemaitre.
Clinique thérapeutique chirurgicale	Pierre Duval.
Clinique propédeutique	Sergent.
Clinique de la Tuberculose	Bezançon.
Clinique chirurgicale orthopédique de l'adulte	Mathieu.
Cardiologie clinique	Laubry.
Professeurs sans chaire	Hovelacque. Mulon. Olivier. Verne.

II. — AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM.	
Ameline	Pathologie chirurgicale.
Bariéty	Pathologie médicale.
Bénard (Henri)	Pathologie médicale.
Bernard (Et.).	Pathologie médicale.
Besançon (J.) .	Hydrologie.
Boulin	Pathologie médicale.
Bulliard	Histologie.
Cathala	Pathologie médicale.
Chevallier ..	Pathologie médicale.
Coste	Pathologie médicale.
Dognon	Physique.
Fey	Urologie.
Funk	Pathologie chirurgicale.
Galliard	Parasitologie.
Gastinel	Bactériologie.
de Gaudart d'Allaines	Pathologie chirurgicale.
De Gennes	Pathologie médicale.
Gayet	Physiologie.
Giroud	Histologie.
Haguenau	Pathologie médicale.
Halphen	Oto-rhino-laryngologie.
Hazard	Pharmacologie.
Huguenin	Anatomie pathologique.
Joannon	Hygiène.
Labbé (Henri) .	Chimie biologique.
Lacomme	Obstétrique.
Lantuéjoul ..	Obstétrique.

MM.	
Laroche (Guy).	Pathologie médicale
Lelong	Pathologie médicale
Lemaire	Pathologie expéri tale.
Leveuf	Pathologie chirurgi
Lévy (Mlle J.).	Pharmacologie.
Lévy-Valensi .	Neurologie et Psy trie.
Ménégaux	Pathologie chirurgi
Mollaret	Pathologie médicale
Moreau	Pathologie médicale
Moulonguet ..	Pathologie chirurgi
Mouquin	Pathologie médicale
Oberling	Anatomie patholog
Petit-Dutaillis.	Pathologie chirurgi
Piédelièvre ..	Médecine légale.
Portes	Obstétrique.
Renard	Ophtalmologie.
Richet	Physiologie.
Sannié	Chimie biologique.
Sénèque	Pathologie chirurgi
Troisier	Pathologie expéri tale.
Turpin	Pathologie médicale
Vignes	Obstétrique.
Wilmoth	Pathologie chirurgi

III. — AGRÉGÉS RAPPELÉS A L'EXERCICE

pour le service des examens

MM.	
Alglave	Pathologie chirurgicale.
Busquet	Pharmacologie.
Chailley-Bert	Physiologie.

MM.	
Leroux	Anatomie patholog
Philibert	Parasitologie. Bactériologie.

IV. — AGRÉGÉS CHARGÉS DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE

à titre permanent

MM.		MM.	
Alajouanine ..	Clinique médicale.	Basset	Clinique chirurgicale.
Aubertin		Brocq	
Brulé		Cadenat	
Chabrol		Gatellier ..	
Chiray		Heitz-Boyer ..	
Donzelot		Moure	
Duvoir		Quenu	
Lian		Schwartz	
Pasteur - Valléry-Radot .		Velter	
Sézary			

MM.	
Ecalle	Clinique obstétricale.
Guéniot	
Le Lorier	
Lévy-Solal ...	
Metzger	

V. — CHARGÉS DE COURS

MM.

Chaillet-Bert, agrégé ..	Education physique.
Ledoux-Lebard	Radiologie clinique.
Philibert, agrégé	Microbiologie.
Ruppe	Stomatologie.
Weil-Hallé	Puériculture.

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A MON PÈRE

A MA MÈRE

A MA FEMME

MEIS ET AMICIS

A MON MAITRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE

Monsieur le Professeur Robert DEBRÉ

Professeur de Bactériologie à la Faculté de Médecine

Membre de l'Académie de Médecine

Médecin de l'Hôpital Herold

Qui m'a inspiré ce travail ; en témoignage de mon respectueux dévouement et de ma profonde reconnaissance.

A MES MAITRES DANS LES HOPITAUX

Externat

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ G. LARDENNOIS.

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ L. DE GENNES.

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ A. SÉZARY.

Internat

MONSIEUR LE DOCTEUR N. PÉRON.

MONSIEUR LE DOCTEUR P. JACQUET.

MONSIEUR LE DOCTEUR J. HUBER.

MONSIEUR LE DOCTEUR CL. VINCENT.

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ E. BERNARD.

MONSIEUR LE PROFESSEUR R. DEBRÉ.

A CEUX QUI M'ONT CONSEILLÉ ET GUIDÉ

DANS LES TRAVAUX DU LABORATOIRE

A Monsieur Georges RAMON

Directeur de l'Institut Pasteur de Garches

Membre de l'Académie de Médecine

A Monsieur le Docteur Henri BONNET

Chef de Travaux de Bactériologie à la Faculté de Médecine

A Messieurs les Docteurs A. ESCALIER, M. LAMY, J. MARIE, Médecins des Hôpitaux de Paris.

A Monsieur Jean MADIER, Chirurgien des Hôpitaux de Paris.

A Monsieur le Docteur Jacques FLORAND.

A MES AMIS

E. BESSIL, Y. BOUVRAIN, J. GERBEAUX,

R. MALLET,

P. AUZEPY, J. COURTIAL, P. DE FONT-RÉAULX

Introduction

Depuis longtemps, la toxine secrétée par le staphylocoque a retenu l'attention de quelques chercheurs, mais jusqu'à présent son étude n'était guère sortie du domaine du laboratoire, n'avait suscité ni travaux d'ensemble, ni applications thérapeutiques.

Aujourd'hui, tout au contraire, une large expérimentation de la thérapeutique par l'anastaphylotoxine a suscité un vif intérêt.

Depuis 1930, se sont succédé, sur la question de la toxine et de l'anatoxine staphylococciques, un nombre considérable de travaux.

Le *bactériologiste,* le *clinicien,* l'*immunologiste,* y trouvent, en effet, un remarquable sujet d'études.

Un progrès considérable fut fait avec la préparation d'une bonne toxine, premier temps indispensable pour obtenir une bonne anatoxine. C'est de là que l'expérimentation a pu se dérouler sur un plan désormais classique, le même qui a fait ses preuves pour la toxine diphtérique et pour la toxine tétanique.

En utilisant le procédé même qui permet de transformer la toxine diphtérique en anatoxine, on peut obtenir, à partir de la toxine staphylococcique, une anastaphylotoxine. Ce corps nouveau possède les propriétés générales exigées par M. G. Ramon pour définir une anatoxine : il n'est plus toxique, il a gardé son pouvoir antigène.

Exactement comme la toxine staphylococcique, l'anato-

xine flocule en présence du sérum antistaphylococcique. Cette réaction de floculation permet de titrer toxine et anatoxine et d'exprimer leur valeur en unités antigènes.

Injectée à doses progressives au cheval, la toxine, ou l'anatoxine, sollicite l'apparition dans le sérum d'antitoxine spécifique ; le sérum antistaphylococcique de titre élevé est ainsi préparé.

La fabrication de la toxine, de l'anatoxine et du sérum ont pu s'inspirer largement de l'expérience antérieurement acquise par l'étude de la diphtérie. Les points de détail ont été précisés par les recherches entreprises dans divers laboratoires : en particulier, par Mrs G. Ramon, P. Nélis et leurs collaborateurs. Nous-même, sous la direction de nos maîtres, avons poursuivi, au laboratoire de la Faculté de Médecine, une série d'études, soit isolément, soit en collaboration avec les auteurs précédents.

Très vite l'anatoxine staphylococcique sortant des limites de l'expérimentation, a été largement utilisée en thérapeutique humaine. De nombreux rapports des auteurs étrangers et français se multiplient sur les résultats de cette thérapeutique opposée à toutes les variétés d'affections staphylococciques.

Mais tous les auteurs ne sont pas d'accord sur les résultats de la vaccination.

Certains ont la conviction absolue que l'anatoxine staphylococcique a une action puissante sur toutes les infections à staphylocoques, et parvient à guérir d'une façon presque constante toutes les affections cutanées.

D'autres, pour avoir observé des échecs, des récidives, en nombre qui est loin d'être négligeable, restent plus sceptiques et demandent que l'on n'oublie pas toute une série de méthodes lesquelles donnent, avec inconstance sans doute, mais aussi avec une certaine fréquence, des résultats favorables dans les staphylococcies.

Les différences manifestes entre les résultats publiés tiennent, sans aucun doute, à la façon même d'observer les malades. Plus, peut-être, qu'aucune autre maladie, l'affection staphylococcique est déroutante par son évolution capricieuse, ses récidives, ses aggravations subites et même ses guérisons inespérées. Elle nécessite une observation clinique attentive et prolongée.

Pour explorer les résultats d'une vaccination à l'anatoxine des recherches doivent être pratiquées au laboratoire. Le contrôle sérologique doit accompagner l'examen clinique.

C'est avec cet esprit d'étroite collaboration entre la clinique et le laboratoire, guidés ici et là par des maîtres que nous tenons à remercier, que nous avons entrepris l'étude de l'anatoxithérapie staphylococcique.

Disons de suite que les résultats nous sont apparus souvent heureux.

*
* *

Le fait même que la thérapeutique par l'anatoxine spécifique ait une influence favorable et évidente dans le traitement de certaines staphylococcies, nous apparaît, peut-être, l'acquisition la plus intéressante dans cette série de recherches.

Que l'immunité antitoxique développée par l'injection d'anatoxine diphtérique ou apportée par la sérothérapie, fasse triompher l'organisme dans sa lutte contre le bacille de Klebs-Loëffler, est un fait parfaitement compréhensible. C'est, en effet, le poison diphtérique qui fait la gravité de la maladie ; le microbe s'y trouve en un point limité, en surface « hors de l'organisme » ; on ne le rencontre jamais au sein même des organes dont l'altération provoque la mort.

Il en va tout autrement du staphylocoque. Nul plus que

lui n'a tendance à essaimer, à passer dans le courant lymphatique ou sanguin, à créer des foyers à distance, à créer bactériémies et septicémies. Dans les affections dues au staphylocoque les lésions relèvent, en grande partie, d'altérations des tissus où le staphylocoque abonde. Rien n'est plus déroutant, au premier abord, que de voir une thérapeutique purement antitoxique triompher d'une affection à allure hautement microbienne.

L'interprétation des résultats de cette thérapeutique conduit à des hypothèses pathogéniques particulièrement intéressantes.

*
* *

Ces considérations d'ensemble étaient nécessaires pour montrer dans quel esprit, nous avons entrepris les études présentées dans ce mémoire. Il comprend, en effet, trois parties principales.

1° Une contribution à l'étude expérimentale de la toxine, du sérum et de l'anatoxine staphylococcique.

2° Un exposé des résultats de la thérapeutique des staphylococcies, basé sur un nombre assez important de cas observés le plus attentivement possible, tant au point de vue clinique, qu'au point de vue sérologique, et longuement suivis.

3° Une discussion pathogénique sur le mécanisme d'action de la thérapeutique par l'anatoxine et le rôle de la toxine dans la maladie staphylococcique humaine et animale.

Aperçu Historique

Il semble difficile d'établir à qui revient le mérite de la découverte de la toxine staphylococcique.

Dès 1891, ARLOING, en 1892, RODET et COURMONT, étudient physiologiquement les « produits solubles sécrétés par le staphylocoque » favorisant l'action pathogène du microbe, activant les phénomènes suppuratifs.

J. DENYS et H. VANDEVELDE, dans un article fondamental paru en 1895, démontrent l'existence d'une toxine staphylococcique décelable *in vitro* et *in vivo*. Non seulement ces deux auteurs montrent l'action lytique générale de l'exotoxine qui est susceptible d'attaquer les globules blancs (leucocidine), les globules rouges, les cellules nerveuses, mais encore ils remarquent que l'injection de l'exotoxine à un animal provoque l'apparition dans le sérum d'antitoxine. Ils réussissent, même, à déterminer ainsi une certaine résistance de l'animal traité vis-à-vis de l'infection par le staphylocoque.

L'existence d'une hémolysine staphylococcique est confirmée dans l'important travail de NEISSER et WECHSBERG (1901).

En 1914, M. NICOLLE et CÉSARI démontrent les trois propriétés fondamentales de la toxine distinguant le pouvoir hémolytique, le pouvoir léthal et le pouvoir escharotique et admettent que ces trois actions relèvent d'une seule et même substance.

De 1914 à une époque toute récente, la question de la toxine staphylococcique ne provoque plus que quelques recherches de détail. La plupart des auteurs s'intéressent à la production de toxine et WALBUM, en particulier (1922), précise l'importance de l'acidité initiale et de certains sels.

Un accident dramatique survient à Bundaberg, où 12 enfants meurent des suites de la vaccination antidiphtérique. On s'aperçoit que le mélange neutre de toxine antitoxine antidiphtérique avait été souillé par un staphylocoque toxigène. La mort de ces enfants relève, semble-t-il, d'une intoxication staphylococcique aiguë. Dès lors, en 1929, on s'intéresse de nouveau au problème des sécrétions toxiques du staphylocoque.

F.-M. BURNET (1929) apporte des modifications importantes au milieu de production et introduit la notion, fort utile, de culture en atmosphère de CO^2. O. GENGOU revient à diverses reprises sur le rôle des sécrétions toxiques du staphylocoque et sur l'unicité de la toxine.

Bientôt la découverte de M. G. RAMON est appliquée à celle-ci ; la toxine est transformée en anatoxine pour la première fois par BURNET. O. GENGOU montre que l'on vaccine mieux les animaux avec cette anatoxine qu'avec n'importe quel vaccin microbien.

Depuis quelques années, dans différents pays, divers auteurs apportent une contribution importante aux progrès réalisés. Nous retiendrons, tout particulièrement, le nom de M. P. NÉLIS, qui consacre à la toxine staphylococcique un mémoire fort détaillé (1934) ; celui de M. G. RAMON et de ses collaborateurs qui ont étudié minutieusement les conditions de production de la toxine, de l'anatoxine et du sérum.

A l'heure actuelle, la thérapeutique des staphylococcies par l'anatoxine et le sérum soulève un intérêt considérable. Les auteurs précédents ont, en particulier, apporté leur con-

tribution très documentée. De tous côtés ont été publiées des observations et des études d'ensemble que nous aurons l'occasion de rappeler, chemin faisant.

Le présent travail a largement profité de ces acquisitions, anciennes ou récentes. Ayant eu la bonne fortune de travailler le problème de la toxine staphylococcique au laboratoire de la Faculté de Médecine, guidés constamment par les conseils et l'expérience de notre maître M. le Professeur Robert Debré et du Docteur Henri Bonnet, nous pouvons apporter ici une contribution personnelle à ce chapitre important de bactériologie, de clinique et de thérapeutique.

PREMIÈRE PARTIE

Recherches expérimentales sur la toxine, l'anatoxine et le sérum staphylococciques

(Production — Propriétés principales — Titrage)

CHAPITRE PREMIER

Production de la toxine staphylococcique

Tous les chercheurs qui se sont occupés de la question de toxine staphylococcique se sont attachés au problème de sa production et chacun d'eux, peut-on dire, a laissé son procédé de fabrication. A l'heure actuelle encore, malgré les progrès considérables accomplis pendant ces quatre dernières années, c'est encore une préoccupation majeure que celle du « bon milieu » et de la « bonne souche ».

La production d'une toxine dépend, on le sait, de deux facteurs : d'abord un milieu de culture propice, ensuite une souche toxigène. Le problème est particulièrement complexe pour le staphylocoque.

Beaucoup de souches staphylococciques ne donnent pas de toxine et parmi celles qui en donnent on constate des différences énormes suivant la composition du milieu, la durée d'incubation, l'acidité... Il arrive que deux milieux identiques ensemencés avec la même souche, dans des conditions comparables, donnent des toxines de valeur différente.

I. — RECHERCHE DU MILIEU DE CULTURE

Il serait sans grand intérêt de rappeler tous les milieux proposés : milieux liquides ou solides, simples ou com-

plexes. Il est difficile de se faire une idée de leur valeur puisque la plupart ont été préparés avant l'application d'un étalon commun de mesure.

En résumant les travaux les plus importants, il faut citer :

Le milieu T. de Dumas, composé de peptone, NaCl, glucose.

Le milieu de Nicolle et Césari : bouillon Martin glucosé, filtré après 5 jours d'étuve.

Le milieu de Gross : bouillon ordinaire additionné de 1 à 4 % de peptone de Witte.

Le travail de Walbum (1922) est capital. Cet auteur montre l'importance de petites quantités de K et Mg dans l'apparition de la toxine, et fixe entre Ph 6 et 7 l'optimum d'acidité.

J. Parker a légèrement modifié ce milieu.

Burnet, de son côté, se servant d'un milieu type Walbum (cœur de bœuf, peptone, $PO^4KH^2SO^4MgPh7$), a étudié minutieusement l'action qu'exerce sur la production de la toxine l'absence ou la présence d'anhydride carbonique dans l'atmosphère où évoluent les cultures. D'après lui le staphylocoque doré ne produit de lysine *in vitro* qu'en présence de CO^2, tandis que la variété « albus » est capable d'en sécréter, même quand l'atmosphère est entièrement privé de ce gaz.

De notre côté, cherchant à obtenir une toxine staphylococcique aussi active que possible, nous nous sommes demandé si le milieu de culture dont M. G. Ramon nous avait donné connaissance pour la production de toxine diphtérique, n'était pas utilisable. Nous avons recherché si d'autre part la culture en atmosphère de CO^2 apportait une amélioration au procédé.

Des essais préliminaires nous ont montré que l'addition d'acétate de soude (qui donne de si bons résultats en ma-

tière de toxine diphtérique) n'améliore pas la production de la toxine staphylococcique.

Nous nous sommes, par contre, assurés que l'addition de glucose est utile et que la qualité de la toxine varie dans d'assez fortes proportions suivant la quantité de ce sucre qui a été incorporé au milieu.

Dans nos expériences, nous avons employé comme base le bouillon dit bouillon R, préparé de la façon suivante :

A un litre d'eau on ajoute 10 cc. HCl pur, 225 gr. de panse de porc finement hachée ; on porte au bain-marie à 45° ; au bout de deux heures, c'est-à-dire quand la digestion pepsique est bien amorcée, on ajoute 325 gr. de viande de veau. On brasse fortement le mélange. Après 20 à 22 heures de digestion, celle-ci est arrêtée par un chauffage de 20 minutes à la température de 80-100°.

On passe le produit de digestion sur une chausse. Le liquide obtenu est alcalinisé par la lessive de soude pour être amené à *Ph 7,6-7,8.*

On filtre ensuite sur papier avant de pratiquer la répartition en ballons et de stériliser à l'autoclave à 110° pendant 45 minutes.

Le glucose est ajoutée avant ensemencement, en proportion définie pour obtenir la concentration désirée.

Le tableau suivant permet de nous rendre compte des variations du pouvoir toxique d'un filtrat suivant la concentration en glucose du milieu, la durée d'incubation, la présence de CO^2.

Le pouvoir toxique est exprimé en fonction de la dose minima hémolytique (plus petite quantité de toxine capable d'hémolyser 1/20 cc. d'hématies de lapin au 1/3).

Atmosphère	Glucose pour %	6 Jours à l'étuve à 37°				7 Jours à l'étuve à 37°				8 Jours à l'étuve à 37°			
		0,001 Urine	0,0005	0,0002	0,0001	0,001	0,0005	0,0002	0,0001	0,001	0,0005	0,0002	0,0001
Sans CO^2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CO^2 à 20%	0	+	+	0	0	+	0	0	0	+	+	0	0
	0,5	0	0	0	0	+	0	0	0	+	+	0	0
	1	+	+	0	0	+	0	0	0	+	+	0	0
	1,5	+	+	+	0	+	+	+	±	+	+	+	0
	2	+	+	0	0	+	+	0	0	+	+	0	0

De ces expériences ressortent avec évidence un certain nombre de points intéressants.

1°) L'importance d'une culture en atmosphère de CO^2. Faute d'employer cet artifice on aurait pu croire la souche étudiée dénuée de pouvoir toxigène.

Pour obtenir la culture sous courant de CO^2 nous avons réparti le bouillon ensemencé dans les fioles à fond plat à deux tubulures avec circulation ininterrompue d'un mélange d'air et de CO^2 à 20 %. Le mélange, air + CO^2 est préparé industriellement. Nous utilisons des obus avec détendeur spécial permettant un dégagement bulle à bulle dans un flacon barboteur. Cette modification à la technique habituellement suivie est des plus recommandables. On obtient de

la sorte un dégagement régulier du mélange gazeux, ininterrompu pendant un mois environ et sans surveillance spéciale.

2° Il y a un avantage très appréciable à ajouter le glucose dans la proportion de 1,5 %.

3° C'est vers le 7e jour de culture que la production de toxine semble maxima. C'est donc après ce délai d'incubation que nous procédons à la filtration des cultures d'abord sur terre d'infusoires, pis sur bougie Chamberland L 3.

Ces essais, qui remontent à 1934, nous ont donc montré que toute modification apportée au procédé de préparation (variations du Ph, du temps d'incubation, addition de sucre, etc...) provoque de grandes variations dans la qualité de la toxine.

Depuis lors, diverses méthodes ont d'ailleurs permis d'obtenir des toxines plus actives. C'est ainsi que Nélis s'est bien trouvé d'un milieu formé uniquement de l'autodigestion pepsique des panses de porc.

M. G. Ramon a fait connaître deux milieux nouveaux. L'un est à base de bouillon de rate, riche en nucléo-protéides et acides aminés, substances dont O. Gengou avait déjà montré l'action favorisante. L'autre, un mélange de peptone et de macération de viande de veau additionné de tartrate de sodium. Ces derniers milieux ont encore amélioré le pouvoir toxique et antigène des filtrats, sous la réserve d'employer une souche appropriée de staphylocoques.

La production de toxine par un germe microbien semble d'ailleurs se faire, en règle générale, aux dépens de matières protéiques utilisées dans le milieu. Et parmi ces matières protéiques un certain nombre seulement paraît pouvoir être utilisé par le microbe lors de l'élaboration de la toxine. Un rôle de premier plan, et presque exclusif, est joué par l'arginine, acide aminé qui permet à certaines

souches de staphylocoque la production immédiate et importante de toxine (O. Gengou).

II. — RECHERCHE DE LA SOUCHE TOXIGÈNE.

Nous avons, en multipliant les prélèvements, cherché à isoler des germes hautement toxigènes. Pour cela, nous nous sommes adressés à différentes lésions staphylococciques humaines et animales, telles que : furoncles, anthrax, pleurésie purulente, phlegmon, parotidite, arthrite, otite, ostéomyélite, staphylo-démodécie du chien.

Ainsi qu'il est habituel, nous avons obtenu des toxines d'activité très variable. Certaines d'entre elles ont une activité à peu près nulle ; d'autres au contraire sont très actives.

Mais, chose intéressante, aucun rapport ne paraît exister entre la gravité ou l'allure générale de la manifestation pathologique et l'activité de la toxine produite. Ainsi, par exemple, certains staphylocoques provenant d'hémocultures se sont montrés dénués de tout pouvoir toxigène, alors que l'un d'eux nous a donné une excellente toxine (souche dite Jabiol). Aucun caractère dans l'évolution de la maladie, humaine ou animale, ne permet *à priori* de juger des qualités toxigènes d'un filtrat.

Ce qui se passe pour le staphylocoque n'est pas pour nous surprendre. Il y a longtemps que de pareilles constatations ont été faites pour le bacille et la toxine diphtériques. Il a fallu de longues recherches pour isoler la bonne souche toxigène de Parkes et William. Ce n'est qu'en multipliant les essais sur des germes variés que l'on trouvera le « germe éminent » suivant l'expression de Maurice Nicolle.

Pendant ces dernières années ont été utilisées dans la

production des toxines certaines souches particulièrement favorables : souche dite Jabiol ; souche 72 de P. Nélis, et souche dite de Wood, isolée par F.-M. Burnet de brûlures étendues.

Les souches conservées au laboratoire semblent garder pendant longtemps intacte leur propriété toxigène. On peut se demander s'il est possible d'exalter cette propriété.

Il ne nous a pas paru que l'*augmentation de virulence* (c'est-à-dire la capacité de se multiplier et de produire des dégâts locaux) *augmente le pouvoir toxique* d'un germe donné.

Ainsi, par exemple, ayant entretenu par passages sur le lapin une souche staphylococcique Wood (en vue des études rapportées plus loin sur l'immunisation expérimentale), nous n'avons pu observer d'augmentation du pouvoir toxique alors que la virulence du germe était nettement augmentée. Ceci nous prouve en passant, une fois de plus, que la virulence et la toxicité d'un germe staphylococcique sont deux propriétés distinctes. La dissociation de ces deux pouvoirs a déjà été faite avec netteté au sujet du bacille diphtérique. Ce n'est pas la seule fois que nous aurons l'occasion d'établir un parallèle entre les propriétés biologiques des deux germes staphylococcique et diphtérique.

Un fait nous a encore frappé : ensemençons 2 fioles d'un même milieu avec une parcelle de colonie d'un staphylocoque ; mettons à l'étuve dans des conditions identiques et étudions la toxine obtenue. Il arrive assez souvent qu'on trouve entre les filtrats des différences appréciables. Ceci donne à penser qu'intervient sans doute la qualité des germes staphylococciques isolés d'une même culture. Comme le fait remarquer P. Nélis, cette hypothèse s'appuie sur la constatation de colonies R et S, de qualité fort différentes existant dans une culture pure d'un germe donné.

On sait quelle discussion a soulevée la question de la pigmentation du staphylocoque et du pouvoir pathogène. Nous n'avons pu déceler de variations de toxicité suivant la pigmentation. Parmi les bonnes souches employées couramment à l'heure actuelle, se trouve en particulier un staphylocoque blanc qui a donné les meilleures toxines obtenues à ce jour.

Il existerait cependant entre la variété dorée et blanche des différences appréciables dans les conditions d'élaboration de toxine. BURNET a avancé en effet, qu'il existe une relation directe entre la pigmentation du germe et sa capacité de produire une toxine en milieu de CO^2. Ainsi le staphylocoque doré ne produit de lysine qu'en présence d'une certaine quantité d'anhydride carbonique, alors que le staphylocoque blanc est capable d'en secréter même quand l'atmosphère est complètement privée de ce gaz. Il ne nous a pas été donné de vérifier ces différences.

*
* *

A l'heure actuelle on ne peut donc plus dire que le staphylocoque est dénué de pouvoir toxigène véritable.

Nous pensons avoir contribué à améliorer la production de toxine en étudiant les caractéristiques principales d'un milieu inspiré de celui employé, avec de si beaux résultats, pour la préparation de la toxine diphtérique, en insistant sur l'importance d'une culture en atmosphère d'anhydride carbonique.

De l'essai de nombreuses souches microbiennes, il ressort que doivent être formellement distinguées la virulence et la toxicité dans l'action pathogène d'un staphylocoque.

Nous ajouterons, même, que non seulement on doit multiplier les essais en faisant varier les germes, mais encore étudier chaque germe retenu sur plusieurs milieux. Par

exemple, il nous a paru que les souches « Wood » et « 72 » ne donnent de bonnes toxines que chacune sur un milieu approprié : la première, sur bouillon de rate, la seconde sur le milieu que nous avons plus haut décrit. Mais l'inverse n'est pas vrai.

Ces travaux préparatoires nous ont permis la fabrication d'un fond de réserve de toxine qui fut utilisé dans les recherches ultérieures (étude des propriétés du filtrat, préparation d'un sérum et d'une anatoxine).

CHAPITRE II

Les propriétés de la toxine staphylococcique

Dès 1914, M. NICOLLE et CÉSARI ont montré les trois propriétés principales de la toxine staphylococcique :

— Elle est douée d'un fort pouvoir lytique vis-à-vis de beaucoup de cellules de l'organisme, en particulier des éléments sanguins.

— Introduite dans le derme elle provoque la nécrose.

— Introduite dans la circulation générale elle provoque la mort de l'animal d'expérience.

Ce sont ces trois propriétés que nous nous sommes efforcé d'exposer. Si elles sont les plus saillantes, elles ne sont certainement pas les seules que possède la toxine. Nous n'avons pas entamé, en particulier, le problème de la propriété coagulante du staphylocoque. C'est un point très discuté de savoir si elle est contenue dans l'exotoxine.

Nous étudierons donc successivement :

I. — L'action cytolytique de la toxine vis-à-vis de diverses cellules de l'organisme.

II. — L'action dermonécrotique (qui n'est en réalité qu'un aspect du pouvoir lytique général de la toxine).

III. — Le pouvoir léthal.

I. — L'ACTION CYTOLOGIQUE DE LA TOXINE STAPHYLOCOCCIQUE.

Un des caractères les plus frappants de la toxine staphylococcique est son action de lyse sur les cellules de l'organisme.

En 1895, Denys et Vandevelde avaient déjà remarqué que les hématies plongées dans le filtrat de culture de staphylocoque se gonflaient et se lysaient.

Les mêmes auteurs reconnaissent à la toxine la propriété spécifique de détruire les leucocytes, les hématoblastes, les cellules nerveuses. Tous les travaux importants parus depuis le travail de ces auteurs se rapportent de près ou de loin à cette fonction lytique de la toxine. Par les procédés hémolytiques se fixent, en effet, de façon courante dans les laboratoires et la valeur toxigène d'un filtrat et la valeur antitoxique d'un sérum expérimental. De l'action cytolytique relève, sans doute, une grande partie des accidents de l'intoxication expérimentale.

L'importance de la lyse cellulaire par la toxine est majeure et étendue à toute la gamme de la hiérarchie cellulaire. Les exemples ont été multipliés. Suivant qu'on envisageait telle ou telle de ses propriétés lytiques on a parlé de leucocidine, hémotoxine, hémolysine, néphrotoxine staphylococciques.

Disons, de suite, que les divers phénomènes enregistrés sous ces dénominations ne signifient probablemet pas pluralité de matières actives. Il n'y pas lieu de voir dans ces termes plus qu'une facilité de langage, une façon de préciser le phénomène plus particulièrement envisagé. Quand on dit, sur la foi des réactions sérologiques, qu'un sérum contient agglutinines et précipitines à la suite de l'injection d'un

antigène, on ne conclue pas pour cela à une pluralité des anticorps. De même, en parlant d'hémolysine, de leucocidine staphylococciques on n'est pas autorisé à conclure qu'il y a dans la toxine plusieurs substances actives isolables. Il apparaît, tout au contraire, disons-le tout de suite, que nous désignons ainsi les manifestations diverses d'une substance unique et indissociable donnant des effets variables suivant l'élément qui est soumis à son action.

1° Action de la toxine sur les hématies.

L'action de la toxine sur les hématies se manifeste d'une façon très simple.

Pratiquement, et pour se mettre à l'abri de certains « facteurs empêchants » envisagés plus loin (tenant à la température et à la concentration), nous employons toujours la même technique : mettre en présence des quantités variables et décroissantes d'une toxine avec une quantité fixe d'hématies de lapin (1/20 cc. d'une dilution au 1/3) (1). Après agitation, la série de tubes est mise à l'étuve à 37° pendant une heure, puis à la glacière pendant une heure. L'hémolyse se fait d'autant mieux que la quantité de toxine opposée aux hématies est plus grande.

---

(1) *Note sur la préparation des hématies de lapin.* — Le sang est recueilli par ponction cardiaque en assez grande quantité, (au moins 5 cc.). Porté dans un tube contenant de l'eau physiologique citratée, le sang est centrifugé. Le culot d'hématies est lavé à l'eau physiologique et de nouveau centrifugé pendant 10 minutes à deux reprises. Les hématies sont ramenées au volume primitif x de sang et on étend de 2 x d'eau physiologique. C'est ce que nous appellerons les hématies au 1/3. Pour l'hémolyse on emploie une goutte de cette suspension distribuée avec une pipette débitant 20 gouttes au cm^3.

Presque toujours elle se manifeste d'abord dans les tubes qui contiennent la plus grande quantité de filtrat. De là, elle s'étend rapidement vers ceux qui en contiennent le moins.

Mais ce n'est pas à une règle absolue. Il arrive parfois que l'hémolyse se fasse parfaitement et rapidement dans les tubes contenant des quantités relativement faibles de toxine et qu'elle ne se manifeste pas (dans les conditions habituelles d'expérimentation) dans les tubes contenant une quantité importante de toxine.

Voici, par exemple, le « phénomène de zone » que nous observons avec un de nos échantillons.

Quantité de toxine

2	1	0,7	0,5	0,2	0,1	0,05	0,02	0,01	0,005	0,003	0,002	0,001
0	0	0	0	±	+	+	+	+	+	+	+	0

Hémolyse

Il existe vraisemblablement dans les 5 premiers tubes des substances qui s'opposent à l'hémolyse normale. Mais les globules rouges de ces tubes n'ont pas été indifférents au contact de la toxine. Si on centrifuge et lave le culot d'hématies de ces 5 tubes avec du bouillon de manière à éliminer toute trace de toxine libre, et si on met ces hématies lavées en contact avec de l'eau physiologique, on observe l'hémolyse instantanée des globules rouges qui avaient été en quelque sorte « sensibilisés » mais non hémolysés par la toxine.

Faute de rechercher le pouvoir hémolytique d'une toxine à des dilutions variables ou de recourir systématiquement à l'artifice signalé, on méconnaîtrait donc parfois la valeur hémolytique d'un filtrat. Nous avons reconnu que pra-

tiquement à la dilution de 1/10 ce pouvoir empêchant n'existait plus.

Nous ne revenons pas, à dessein, sur les variations très considérables du pouvoir hémolytique des différents filtrats. Nous les avons observées après de nombreux auteurs. Suivant la souche étudiée et le milieu employé, la valeur hémolytique d'une toxine est considérablement modifiée. Rappelons simplement que toutes les souches sont capables de produire l'hémolysine, sans qu'il y ait rapport de proportionnalité avec la pigmentation ou la virulence de l'échantillon.

Cette action hémolytique se manifeste avec facilité sur les globules rouges de lapin, de mouton, de chèvre, de bœuf et souvent aussi d'homme. Elle n'existerait pas, d'après Forssmann, vis-à-vis des hématies de cobaye et de cheval.

A) *Importance de la température sur la manifestation du phénomène hémolytique.*

a) *A 37°* la lyse se manifeste rapidement dans les 20 premières minutes ; elle est toujours à peu près complète au bout d'une heure.

Nous avons vérifié que le passage d'une heure à la glacière, dans un deuxième temps, ne donne qu'inconstamment des modifications minimes.

b) *A la température du laboratoire* l'hémolyse ne se produit que beaucoup plus lentement.

c) *A 0°*, on peut, dans certains cas, retrouver l'inhibition du phénomène de lyse. Dans nos expériences, la protection des globules rouges vis-à-vis de la toxine à 0° n'apparaît que pour des quantités importantes de toxine (1 cc. - 2 cc.) et l'hémolyse se produit aux dilutions de 1/10-1/100.

Ici encore il est aisé de constater que, non lysées au con-

tact du filtrat, les hématies n'en sont pas moins touchées par la toxine. Lavées et mises en suspension dans l'eau physiologique, elles se lysent instantanément.

La question de l'absorption de l'hémolysine par les globules rouges semble d'ailleurs assez complexe.

A 0° l'absorption de la lysine est variable. En étudiant le liquide surnageant les hématies au bout de 5 minutes, une heure et deux heures de contact, on se rend compte que le premier échantillon ne contient plus de lysine et les autres une quantité croissante comme s'il y avait dissociation progressive dans le mélange de la lysine fixée entièrement sur les hématies pendant les premières minutes du contact. Mais ce n'est pas là un phénomène constant : parfois la fixation de la lysine sur les hématies est persistante mais la dissociation se produit si le mélange est remis à 37°.

Comme nous venons de le voir, si le mélange filtrat-hématies est placé à 37° la lyse s'opère facilement. Mais par contre l'absorption totale de la lysine par les hématies est très difficile. Comme le dit O. Gengou, « le partage à 37° ne se fait pas au bénéfice entier de l'une des parties du mélange, mais aboutit à un équilibre, rendant malaisée l'absorption pratiquement totale de l'hémolysine par les globules rouges ».

C'est, par contre, aux températures de 10° à 16° que l'absorption de l'hémolysine du filtrat se fait de façon totale. Dans ces conditions, si on a traité le filtrat par une assez grande quantité d'hématies, on se rend compte qu'il est dépouillé de tout pouvoir hémolytique vis-à-vis de nouveaux globules rouges.

B) *Influence de la température sur le pouvoir hémolytique du filtrat.*

L'hémolysine est thermolabile. Peu modifiée dans ses propriétés jusqu'à 50°, elle est fortement affaiblie à 55° et

chauffée à 60° pendant 20 minutes elle est entièrement inactivée de façon définitive.

C) *Action de certains corps chimiques sur l'hémolysine antistaphylococcique.*

M. P. Nélis a repris sur le filtrat staphylococcique les divers essais d'atténuation tentés par lui sur la toxine diphtérique.

A 37° SO^4H^2 à la proportion de 5 % détruit complètement la toxine en quelques heures, les mélanges à 1 %, 1/200 ne sont qu'affaiblis. A la température du laboratoire l'acide à la concentration de 5 % ne détruit que partiellement l'hémolysine en 24 heures.

L'action de HCl est la même, aux mêmes concentration et température.

Les acides faibles sont sans action, même après contact très prolongé.

Les acides salicylique, benzoïque, oxynaphtoïque, atténuent ou détruisent complètement le pouvoir hémolytique des filtrats staphylococciques.

Les sels de quinine font disparaître la propriété lytique en 4 jours à 37° au taux de 1 % et 1/200.

Nous avons étudié personnellement l'action de l'alcool sur la toxine. Par addition d'alcool absolu au filtrat un précipité se forme. Les substances alcoolo-solubles et alcoolo-précipitables reprises en solution, semblent avoir perdu tout pouvoir hémolytique. En réalité, si on a soin de reprendre les hématies apparemment non touchées et de les mettre en eau physiologique, on observe leur lyse immédiate. Le pouvoir hémolytique n'est donc pas détruit par action de l'alcool sur la toxine. Il est simplement caché dans les conditions d'expérience.

*
* *

On voit donc l'importance de l'hémolyse par la staphylotoxine. C'est une des propriétés les plus facilement mises en évidence et des plus fécondes dans ses applications pratiques.

A quoi correspond cette hémolyse ? Les expériences réalisées jusqu'ici ne nous montrent que le phénomène grossier de diffusion de l'hémoglobine. On peut, poussant plus loin l'enquête, se demander si la toxine agit simplement en altérant plus ou moins la forme cellulaire, ou si, au contraire, elle agit profondément sur l'hématie détruisant jusqu'aux substances à laquelle la cellule doit ses propriétés caractéristiques.

C'est à cette question que répond de façon élégante une expérience de O. Gengou, sur la coagulation du plasma oxalaté sous l'influence d'hématies. On sait, depuis Bordet et Renaux, que, si on ajoute des hématies à du plasma privé de cellules (et conséquemment de cytozyme), on observe la coagulaion du plasma. La thrombine s'est, en effet, formée par union du sérozyme plasmatique à du cytozyme apporté par les hématies. Dans des expériences comparatives, si on cherche à obtenir cette coagulation plasmatique par addition d'hématies lysées par la staphylotoxine, de stromas d'hématies résultant de la lyse, du liquide qui surnage les stromas, on se rend compte que le cytozyme des hématies n'abandonne pas le stroma au cours de la lyse des éléments rouges par la staphylotoxine.

2° Action de la toxine sur les hématoblastes.

Elle a été décrite et étudiée par O. Gengou. A 37° en 30 à 60 minutes, le mélange d'hémoblastes et de toxine s'éclair-

cit et on peut vérifier au microscope que la plupart des cellules ne présentent plus qu'un fin contour visible. Un filtrat préalablement chauffé à 80° pendant 1/2 heure perd sa propriété lytique.

On peut encore se rendre compte que cette lyse des hématoblastes ne détruit pas dans ces cellules les substances qui concourent à la coagulation du sang. L'addition de toxine n'altère pas le cytozyme contenu dans l'extrait de plaquettes ou dans les hématoblastes.

3° Action de la staphylotoxine sur les leucocytes.

En 1894, Vandevelde a découvert que l'exsudat pleural fourni par injection locale de staphylocoques virulents au lapin possédait avec netteté un pouvoir de destruction des leucocytes. Dans la plèvre, le staphylocoque élabore une substance hautement délétère pour les globules blancs, à laquelle Denys et Vandevelde ont donné le nom de leucocidine. Les cultures de staphylocoque doré, en mélange de bouillon et de sérum sanguin, contiennent au bout de 48 heures, dit Vandevelde, des quantités importantes de leucocidine. D'autres auteurs ont, depuis, utilisé des méthodes variées de production de leucocidine active parmi lesquels Bail, Neisser et Wechsberg.

L'action de la leucocidine sur les leucocytes peut s'observer *in vivo* par la méthode simple de Vandevelde : injection intra-pleurale de staphylocoques virulents et étude microscopique de l'exsudat. Bail obtient la production d'exsudat par injection pleurale à 48 heures d'intervalle d'aleurone, puis de filtrat.

In vitro, l'action leucocidique peut se lire directement en goutte pendante sur platine chauffante ou par la méthode dite au bleu de méthylène de Neisser et Wechsberg. Cette

méthode est basée sur le fait que les leucocytes vivants réduisent la solution de bleu et la rendent incolore, tandis que les leucocytes tués ont perdu ce pouvoir. Leucocidine et leucocytes sont laissés en contact et on leur ajoute, au bout d'un temps donné, la solution de bleu de méthylène. Quand les leucocytes ont été activement attaqués par la toxine, la réduction ne se produit plus.

Cette leucocidine ne diffère en rien des autres principes actifs du filtrat staphylococcique. Détruite vers 55°, comme l'hémolysine, elle n'est pas non plus spécifique d'un échantillon donné. Les toxines de toutes les souches sont neutralisables par la même « antileucocidine » obtenue en traitant des lapins avec des exsudats pleuraux contenant de la leucocidine (Neisser).

De même que la staphylotoxine lyse hématies et plaquettes sans détruire les propriétés fondamentales de ces cellules, de même, laisse-t-elle intacts dans les milieux lysés certaines propriétés attachées à des sécrétions leucocytaires. Par exemple, la transformation du vibrion cholérique en granules ou le pouvoir bactéricide du sérum à l'égard du Bacillus Anthracis (O. Gengou).

*
* *

La toxine staphylococcique ne semble donc épargner, au moins dans leur morphologie, aucun des éléments figurés du sang. Jouant le rôle de leucocidine, d'hemolysine, elle est également lytique pour les hématoblastes de lapin.

Nous ne voyons, sans doute, dans ces expériences, qu'un petit champ de ses activités. Elle semble avoir, tant *in vitro* qu'*in vivo*, un pouvoir de lyse étendu à quantité d'éléments cellulaires mobiles ou fixes.

Denys avait déjà remarqué son action sur les grandes cellules éosinophiles, les cellules nerveuses du ganglion

sympathique. O. Gengou a pu éclaircir, par lyse *in vitro* des émulsions d'organes de lapin (foie, rein, rate).

Récemment, nous avons pu nous rendre compte que, déposée en contact du nerf splanchnique du lapin, elle détruisait la substance nerveuse. Les animaux succombent et présentent à l'autopsie les lésions caractéristiques de l'irritation du splanchnique (hémorragies du tractus digestif).

Nous ne pouvons manquer de réunir à cette action lytique l'action nécrosante de la toxine quand on l'injecte dans le derme.

Il est vraisemblable que la toxine peut attaquer beaucoup de cellules ; certaines paraissent plus sensibles à l'intoxication, telles les cellules nerveuses. Et il importe de considérer que tout se passe comme si cette puissante action lytique, reconnue *in vitro* à l'égard d'éléments si variés, se manifestait également *in vivo*, avec la même violence, lors de l'injection du filtrat aux animaux d'expérience.

II. — LE POUVOIR DERMONÉCROTIQUE DE LA TOXINE.

Au pouvoir lytique se rattache étroitement l'action dermonécrotique de la staphylotoxine.

M. Nicolle et Césari ont reconnu en 1914, le pouvoir escarotique de la toxine staphylococcique.

En 1924, Julia Parker a montré que la toxine possède un pouvoir électif sur le derme et elle a même, avec A. Gunther, donné à la dermotoxine une individualité propre, la séparant de l'hémo-leucocidine.

Cette action dermonécrotique s'observe avec facilité chez le cobaye ou chez le lapin, animal habituellement utilisé.

Elle se manifeste de façon assez univoque et voici, par exemple, le résultat d'une de nos inoculations.

L'inoculation intradermique de 1/10 cc. de la toxine 18 sur le lapin donne, dès les heures qui suivent, une rougeur diffuse. 24 heures après l'inoculation la région avoisinant le point de piqûre est nettement surélevée et infiltrée suivant une circonférence de 3 cm. de diamètre environ. C'est à peine si on peut plier légèrement sur lui-même ce placard dermique d'infiltration.

Après 48 heures, l'escarre sèche s'est formée. La région infiltrée se marque en son centre d'une zone de la couleur de la peau de chamois, nettement surélevée sur le reste de l'infiltration, zone escarrotique sèche, (elle présente à la coupe l'aspect d'un tissu lardacé et dense) et résistante.

Dans les jours qui suivent le processus escarrotique se précise, la zone centrale surélevée se dessèche, devient dure. Elle sonne sous le stylet et se détache lentement du plan sous-jacent.

Au 6e jour, l'aspect est le suivant : sur toute la surface épilée (3 cm. sur 2) la peau paraît rosée. Elle est centrée par une zone escarrotique croûteuse, ovalaire, déprimée en son centre, dont le grand axe mesure 15 mm., le petit axe 7 mm. La croûte est rougeâtre, surélevée sur un de ses bords, sèche, sans trace de suintement. Tout autour la zone d'induration déborde largement l'escarre et la zone congestive, sous forme d'une plaque dermique mobile sur les plans profonds.

Ce n'est qu'au bout de 12 jours que la croûte va tomber laissant un ulcère blanchâtre, à peine saignant, enfoui sous les poils qui ont repoussé.

Il faut plusieurs semaines pour que la guérison de cet ulcère s'effectue lentement. L'induration persiste après plusieurs mois.

Si on pratique sur un même animal des injections intradermiques d'une même toxine, on observe tous les intermédiaires entre cette escarre typique et la simple réaction papuleuse rosée. A partir d'une certaine dose, on n'obtient plus de réaction cutanée.

Voici, par exemple, les divers aspects obtenus par injection intradermique de 1/10 cc. de la toxine 14 à des dilutions différentes (lecture à la 48e heure).

Dilutions employées	Résultats
1/10	Escarre.
1/100	Escarre.
1/200	Zone très surélevée, très rouge, nécrose au point de piqûre.
1/500	Papule nette, rouge.
1/750	Papule rose.
1/1000	A peine surélevé, à peine visible.

Tous les animaux ne réagissent pas d'une façon identique à l'injection intradermique de toxine staphylococcique.

On a longtemps été surpris de trouver de temps en temps au cours de l'expérimentation, des animaux dont le derme paraissait indifférent et Burky avait pensé que cette anomalie était due à quelque qualité héréditaire. En réalité, les animaux qui ne réagissent pas, sont précisément ceux qui présentent une immunité antitoxique humorale. Cette intéressante notion, que nous devons à M. G. Ramon, oblige à toujours employer, pour les recherches basées sur la nécrose cutanée, des animaux neufs, dans le sérum desquels on aura préalablement vérifié l'absence d'antitoxine naturellement acquise. L'immunité antitoxique, qu'elle ait été acquise passivement par voie héréditaire chez les très jeunes animaux, ou de façon latente par le contact de l'ani-

mal avec le staphylocoque, modifie, en effet, les résultats des tests cutanés.

A la question de la dermotoxine, on pourrait rapporter celle des réactions cutanées observées chez l'homme, par injection intradermique de toxine. Mais il n'est pas certain que ces réactions relèvent précisément de l'action nécrotique de la toxine. Peut-être représentent-elles des phénomènes de sensibilisation. Nous préférons leur consacrer un chapitre spécial d'exposé et de discussion.

III. — EFFET DE LA TOXINE SUR L'ORGANISME DES ANIMAUX DE LABORATOIRE.

Il y a relativement peu de travaux qui portent sur l'intoxication aiguë par les filtrats staphylococciques et cela tient sans doute au fait, qu'hormis les accidents désastreux de Bundaberg, on ne trouve pas, au cours de la maladie staphylococcique humaine de phénomènes comparables en importance et en gravité, à ceux produits chez l'animal par l'injection massive de toxine.

Le pouvoir léthal est, cependant, une des qualités fondamentales des filtrats staphylococciques. Dès 1096, Kraus et Pribram avaient relaté la mort rapide des animaux injectés par voie veineuse. M. Nicolle et Césari (1914) et Russ (1916) ont confirmé l'action de la toxine sur le système circulatoire et respiratoire. MM. H. Bonnet et P. Nélis, ainsi que Travassos, ont insisté plus récemment sur l'importance des accidents nerveux provoqués par le poison staphylococcique. Nous-même avons pu étudier plus à fond l'action neurotrope de celui-ci.

1° Symptomes de l'intoxication expérimentale.

Les accidents provoqués sont sensiblement les mêmes pour le cobaye et le lapin. C'est ce dernier animal qui est le plus employé pour l'expérimentation.

Nous ne reviendrons pas sur les résultats de l'inoculation intradermique.

A) *Par voie sous-cutanée,* divers auteurs et nous-même, n'avons pas observé de paralysie. Comme M. Nicolle et Césari l'ont montré, on obtient dans ces conditions une nécrose locale avec escarre sèche.

B) *Par voie intraveineuse,* la toxine provoque des accidents rapides.

Voici, par exemple, ce que l'on observe avec une toxine extraite de la souche Wood (de dose test 0,11), injectée au lapin, à raison de 0,8 cc. par kg. et qui provoque la mort de l'animal en 25 minutes environ.

Il y a d'abord un temps de latence qui peut aller jusqu'à une vingtaine de minutes. Puis l'animal paraît inquiet, il fait quelques pas, la respiration s'accélère. Il tombe. La respiration devient de plus en plus irrégulière. Souvent elle s'arrête pendant quelques secondes. Il arrive alors à l'animal de pousser des cris et de courir sur une distance de quelques mètres avant de retomber définitivement sur le côté. Bientôt la respiration devient irrégulière ; le cœur devient alors rapide et s'affaiblit ; il cesse de battre en même temps que se produisent les derniers mouvements respiratoires et que les sphincters se relâchent.

Avec des doses moindres les accidents vont s'étaler sur plusieurs heures, au cours desquelles l'animal est immobile, ne réagissant à aucune excitation extérieure. Finalement l'arythmie respiratoire précède de peu la mort.

C) *L'injection de toxine par voie rachidienne* avait donné à Travassos une paralysie du train postérieur quand l'injection était faite au niveau du rachis lombaire.

MM. H. Bonnet et P. Nélis ont fait connaître les résultats de l'injection de toxine par voie sous-occipitale. C'est là un mode d'introduction tout à fait pratique et que nous avons employé à maintes reprises. Les accidents de ponction sont exceptionnels quand on a soin de rigoureusement immobiliser la tête de l'animal en extrême flexion. Nous avons pu contrôler anatomiquement que l'injection pouvait se faire au sein même du liquide céphalo-rachidien, sans effleurer la substance nerveuse. Nous nous sommes également assuré que les symptômes observés relèvent uniquement de l'action toxique et non d'un traumatisme éventuel, d'une hémorragie méningée, ou de l'hypertension artificielle du liquide.

Voici, par exemple, le protocole d'une de nos inoculations. Il rend compte de la succession des phénomènes morbides groupés ici en un temps assez court. Si on envisage l'action de doses différentes de toxine, on se rend compte que seuls diffèrent le temps qui sépare l'injection du premier symptôme observé et la durée de la survie, mais que les différents symptômes se produisent suivant un schéma toujours semblable à lui-même.

Expérience : Un lapin de 3 kg. 100 reçoit en injection sous-occipitale 0,18 cc. de toxine 22 (D.M.H. = 0,0002), soit environ 0,06 par kg.

18 h. 18. — Injection facile après écoulement de 4 gouttes de liquide céphalo-rachidien.

Pendant la minute qui suit rien ne se produit.

18 h. 19. — Brusquement il s'immobilise, les 4 membres se projettent en extension. Il roule sur lui-même suivant l'axe du corps, exécutant des « mouvements de tonneau » orientés dans

Injection de toxine par voie occipitale.

Une attitude caractéristique : tête et membres en hypertension.
Noter l'horripilation du train antérieur de l'animal.

L'Exophtalmie, symptôme constant.

le sens des aiguilles d'une montre. Il roule ainsi sur lui-même 20 ou 30 fois, puis s'arrête couché sur le flanc.

18 h. 20 - 18 h. 22. — Il essaie de se relever en se soulevant sur les pattes postérieures mais retombe continuellement sur le côté. A ce moment l'exophtalmie est légère, mais les moustaches, les poils qui couvrent le thorax et le train antérieur sont horripilés de façon extrêmement nette.

18 h. 23. — Se couche sur le flanc droit. La tête exécute lentement un mouvement d'hyperextension tel que la partie antérieure du cou est en prolongement du thorax et que l'occiput touche le dos. Les membres inférieurs se mettent en hyperextension, en rectitude absolue. La dyspnée est vive avec polypnée 128.

18 h. 26. — Il se relève et fait quelques pas, puis s'immobilise la tête en hyperextension, les pattes antérieures « en croix ».

18 h. 30. — Nystagmus horizontal rotatoire, rapide et régulier. Exophtalmie manifeste. Les globes oculaires regardent tous deux à droite.

18 h. 35. — Brusquement l'animal se couche sur le flanc ; mouvement de « pédalage » des membres postérieurs, puis de nouveau il roule sur lui-même une dizaine de fois.

18 h. 38. — Polypnée : 140.
Tirage et cornage.

18 h. 42. — Crises convulsives où il se débat des quatre membres.

18 h. 44. — La respiration se ralentit.
Nouvelle crise de convulsions, il tourne sur lui-même en tonneau en décrivant une circonférence.

18 h. 45. — La respiration est très ralentie. Porte continuellement la tête à droite.

18 h. 50. — Respiration saccadée.

18 h. 55. — Mouvements de torsion du cou et de la tête qui se porte à droite une dizaine de fois.
Les battements du cœur sont nettement perçus à la palpation.

Strabisme interne de l'œil droit (persistera pendant une dizaine de minutes).

19 h. 03. — Crise convulsive. Essaie de se relever.

Mouvement de pédale. Opisthotonos, pendant 30 secondes environ. Très forte accélération du rythme respiratoire puis crises convulsives incessantes, subintrantes jusqu'à

19 h. 10. — Irrégularités respiratoires. Pauses de près d'une minute.

19 h. 15. — Cesse définitivement de respirer. Le cœur bat encore. Cornéen aboli. Frémissements musculaires agoniques.

19 h. 29. — On perçoit encore les battements cardiaques par contractions précipitées. Le cœur bat pendant quelques instants puis s'arrête.

On percevra des contractions nettes jusqu'à

19 h. 30. — Mort.

En résumé, les principaux symptômes observés à la suite de l'injection sous-occipitale de la toxine staphylococcique sont : des troubles de la motilité qui paraissent des accidents d'excitation (mouvements de tonneau, de pédalage), des contractures localisées ou généralisées, de l'exophtalmie et de l'horripilation. Tous ces phénomènes sont constants.

Nous avons été particulièrement frappés par l'attitude prise par nos animaux d'expérience à un moment quelconque de la brève évolution clinique. La nuque se met en hyperextension, les quatre membres se raidissent et sont spasmodiquement contracturés par des secousses subintrantes. Nous appliquerions, volontiers, à ces accidents aigus, par analogie avec ceux de la pathologie humaine, le nom d'attaques toniques. Elles ne représentent, en quelque sorte, que les renforcements paroxystiques de la rigidité de décérébration.

Les troubles respiratoires apparaissent précocement :

dès les premières minutes, polypnée, puis ralentissement, arythmie respiratoire, apnée. Dans toutes les expériences, *le cœur cesse de battre longtemps après la dernière respiration ;* une heure après il est encore souvent possible d'en apprécier les pulsations.

En faisant varier les doses de toxine injectée, on observe des variations dans le temps de latence (entre le moment de l'injection et le moment du premier symptôme observé) et dans le temps de survie.

En employant une toxine staphylococcique atténuée par action de l'alcool à 95°, nous avons pu obtenir, dans quelques cas, non plus des phénomènes d'excitation immédiate mais des accidents paralytiques retardés : paraplégie complète évoluant avec troubles sphinctériens, vers la mort en 4 à 7 jours.

D) *L'injection intracérébrale de toxine* donne, d'après Travassos, des symptômes qui rappellent tout à fait ceux que nous venons de décrire.

Cette action tétanisante et convulsivante de la toxine apparaît comme une propriété spécifique : l'antitoxine staphylococcique neutralise, en effet, proportionnellement, les effets de l'inoculation sous-occipitale.

2° Recherches sur l'action physiologique de la toxine staphylococcique.

Arloing, en 1891, A. Rodet et J. Courmont en 1892, avaient déjà noté que l'injection de cultures totales de staphylocoques provoquait, chez le chien, un affaiblissement des battements cardiaques, l'augmentation de tension artérielle, l'hypothermie et des convulsions.

L'étude physiologique de bons filtrats, qui méritent vraiment le nom de toxine, résulte des travaux de P. Nélis et de Bonnet.

Si on injecte la toxine par voie veineuse chez le lapin, l'action cardio-vasculaire est précoce. On note rapidement la chute de tension, la diminution d'amplitude et de fréquence des battements cardiaques, finalement la fibrillation ventriculaire. *Les troubles respiratoires sont manifestement secondaires et terminaux.* Par voie veineuse, la toxine apparaît avant tout comme un poison cardiaque.

Par voie sous-occipitale, le méacnisme de la mort est entièrement différent. *L'arrêt respiratoire est le phénomène primitif,* le cœur ne cesse de battre que quelques minutes après l'apnée. Tout se passe comme s'il y avait inhibition du centre respiratoire. En effet, on peut prolonger la vie de l'animal par la respiration artificielle.

La toxine staphylococcique, agissant à doses massives, doit donc ses effets toxiques à une action tantôt cardiaque, tantôt nerveuse. Elle apparaît en possession d'au moins deux propriétés fondamentales : cardiotoxique et neurotoxique. L'une ou l'autre de ces actions s'extériorise suivant le mode d'introduction.

N'agit-elle pas de façon différente quand on l'administre à moindre dose, quand la survie est de quelques jours et non de quelques heures ? Dans ces conditions, des mécanismes complexes entrent en jeu pour provoquer la mort ; l'atteinte massive de parenchymes hautement différenciés tels que le foie et le rein. C'est ce que montrent à l'évidence les contrôles anatomiques.

3° Etude anatomopathologique des lésions provoquées par la toxine staphylococcique.

Quand on autopsie un lapin qui vient de succomber rapidement après injection intra-veineuse de toxine, on ne trouve qu'une vaso-dilatation généralisée de tous les organes thoraciques et abdominaux. Plus rarement, si la mort a demandé plusieurs heures, un exsudat péritonéal ou péricardique emplit les cavités, des taches ecchymotiques farcissent le parenchyme pulmonaire. Le cœur est toujours nettement dilaté ; le sang qu'on retire par ponction est hémolysé.

L'étude microscopique des organes lésés méritait d'être faite avec une attention particulière étant donné ce que nous savons de la puissante action lytique *in vitro* de la toxine staphylococcique. Malgré la rapidité de la mort, des lésions microscopiques se trouvent d'une façon certaine. Les lésions cardiaques sont assez rares et caractérisées par l'aspect granuleux et hyperplasique de certaines fibres ; les tubes du rein peuvent se montrer altérés par tuméfaction trouble des tubes contournés (Nélis et Picard).

Dans le parenchyme hépatique, nous avons retrouvé, comme les auteurs précédents, des plages entières de parenchyme altéré. Les travées sont normalement orientées mais le protoplasma est trouble et décoloré, tandis que le noyau est de taille et de coloration normales. On retrouve, en somme, par touches légères ou par plages étendues, les lésions anatomiques du « Foie toxique ». Des suffusions hémorragiques parsèment quelquefois les poumons et la rate. Fait assez curieux, le sang des veines apparaît laqué, en flaque, tandis que les artérioles sont plus larges que normalement et renferment des globules de morphologie habituelle.

En somme : parfois dans le cœur, souvent dans le rein et le foie, la toxine staphylococcique manifeste son action de destruction cellulaire.

Frappés par le neurotropisme de la toxine, nous avons recherché si quelque altération anatomique expliquait l'explosion subite des accidents que nous avons décrits.

Les lésions anatomiques rencontrées chez l'animal qui a succombé à une injection rachidienne de toxine, peuvent être décrites de la façon suivante :

Les viscères abdominaux participent tous d'une vaso-dilatation générale. Les poumons sont très souvent couverts de placards hémorragiques ; nous les avons aussi vus turgescents, spumeux dans un cas de mort retardée avec œdème aigu terminal.

A l'ouverture de la boîte cranienne, on ne trouve pas trace d'hémorragie méningée, mais en pratiquant la coupe systématique de cerveaux formolés, il nous est arrivé à plusieurs reprises de trouver trace de foyers hémorragiques très limités en largeur et en hauteur, à peine visibles à l'œil nu, mais évidents à l'examen microscopique. De nombreuses hémorragies sont disséminées dans le bulbe, la protubérance, les pédoncules, le plancher du 3e ventricule, le cortex. Ces suffusions sanguines siègent, avant tout, dans la substance blanche ; on peut saisir, sur quelques préparations la rupture de la paroi capillaire d'où le sang s'épanche à distance en bourrant les espaces inter-cellulaires sans altérer grossièrement la cellule nerveuse elle-même. Que représentent ces hémorragies diffuses ? Provoquent-elles la si curieuse symptomatologie clinique observée chez nos animaux d'expérience ? Les hémorragies ne se rencontrent, en général, que sur les animaux qui ont survécu quelques heures à l'injection de toxine. Nous ne les avons pas retrouvées chez ceux qui avaient répondu par une mort foudroyante ou rapide à l'injection. Il est défendable de

les considérer comme le résultat d'une vasodilatation tardive et secondaire survenant alors que la cellule nerveuse a été déjà fonctionnellement atteinte. On peut, en effet, difficilement admettre que des hémorragies de siège variable, et, semble-t-il, disposées au hasard dans le parenchyme cérébral, provoquent toujours chez l'animal une symptomatologie aussi semblable à elle-même, avec le déroulement presque « mathématique » des mêmes phénomènes. Si on essaye d'interpréter les symptômes neurologiques observés chez les animaux injectés, on constate qu'ils portent la marque d'une lésion pédonculaire (noyau rouge, pédoncule cérébelleux supérieur). Or ce n'est là ni un siège constant ni même un siège fréquent des lésions hémorragiques que nous avons pu observer.

La présence de ces hémorragies démontre, en tout cas, l'action diffuse, le retentissement à distance rapide d'une injection minime de toxine.

En jetant un coup d'œil d'ensemble sur les propriétés de celle-ci, on ne peut manquer d'être frappé avant tout, par sa singulière propriété d'attaquer et de tuer les cellules de l'organisme. C'est sur cette action de lyse cellulaire *in vitro* que nous basons un des plus intéressants procédés de titrage de la toxine et de ses dérivés. C'est sur son pouvoir destructeur *in vivo* qu'on s'est appuyé pour jeter les fondements d'une théorie du mécanisme d'agression du staphylocoque.

CHAPITRE III

Le sérum antitoxique staphylococcique

Des expérimentateurs français et étrangers se sont depuis longtemps attachés à la question des sérums antitoxiques staphylococciques.

Denys et Vandevelde ont provoqué chez l'animal l'élaboration d'une antitoxine par injection de toxine ; Kraus et Pribram ont préparé, en 1906, un sérum antitoxique de chèvre. Borrel et Bridré ont préparé un sérum de cheval qui a servi aux expériences classiques de Nicolle et Césari en 1914.

J. Parker a étudié l'action antidermotoxique du sérum.

Le travail de F.-M. Burnet (1929) marque une date importante ; il découvre, en effet, le phénomène de floculation qui se produit entre toxine et antitoxine staphylococciques.

I. — PRODUCTION D'UN SÉRUM ANTISTAPHYLOCOCCIQUE.

De tous les antigènes staphylococciques capables de provoquer dans le sérum l'apparition de produits antitoxiques, tous sont loin d'avoir la même valeur.

L'injection de microbes est presque inopérante.

Par contre, l'injection de toxine ou d'anatoxine sollicite

vivement l'organisme et de façon d'autant plus active que le pouvoir antigène du produit employé est plus grand. Dès qu'on fût en possession de bonne toxine la qualité du sérum antitoxique a été considérablement améliorée.

La préparation du sérum antistaphylococcique a été faite à l'Institut Pasteur et la technique est calquée sur celle employée pour la préparation du sérum antidiphtérique.

Au début la toxine seule avait été injectée, mais elle entraîna des réactions locales et générales extrêmement sévères.

Aussi, a-t-on pris l'habitude de pratiquer des injections préalables d'anatoxine, puis de continuer l'immunisation par des injections de toxine. A chaque injection est ajouté du tapioca, substance inerte qui favorise, par l'appel leucocytaire local, l'élaboration de l'antitoxine.

Les injections sont répétées dans le tissu cellulaire sous-cutanée tous les 6 jours en moyenne.

A l'heure actuelle on est en possession de sérum titrant de 150 à 300 unités. Quelques-uns atteignent 500 unités et même 600.

II. — PROPRIÉTÉS ANTITOXIQUES EXPÉRIMENTALES DU SÉRUM ANTISTAPHYLOCOCCIQUE

Un tel sérum antistaphylococcique est doué de propriétés antitoxiques.

Mélangé à la toxine staphylococcique *in vitro*, il neutralise en effet, complètement ou proportionnellement, les qualités toxiques d'un filtrat. Un mélange suffisamment neutralisé est donc incapable de provoquer la lyse des globules rouges, de déterminer une nécrose cutanée, de provoquer un désordre général quand on l'injecte à l'animal.

L'action antitoxique du sérum peut encore se manifester *in vivo*.

C'est ainsi que le sérum protège l'animal contre une dose mortelle de toxine, à condition que l'injection de sérum précède de peu celle de la toxine. Nélis a montré également que dans des conditions particulières l'injection de sérum arrive à protéger complètement l'animal contre les effets locaux et généraux de petites doses de toxine.

Tous les essais pratiqués montrent donc la *neutralisation évidente de la toxine par le sérum quand on opère* in vitro. *In vivo*, l'on comprend que les résultats soient moins nets. Cela tient d'une part à la spoliation énorme de l'antitoxine apportée passivement à un organisme, d'autre part, à l'extraordinaire affinité de la toxine pour les cellules de l'organisme.

La préparation même du sérum antistaphylococcique nous permet de faire une remarque importante. Pour l'immunisation des chevaux, on emploie des antigènes de provenance très diverses, toxines et anatoxines préparées sur des milieux différents, avec des souches différentes. Or, dans tous les cas, l'antitoxine produite se révèle la même dans ses propriétés. Quel que soit l'antigène utilisé pour sa production, elle neutralise, spécifiquement et proportionnellement, dans ses trois propriétés (hémolytique, nécrotique, léthale) la toxine qu'on lui oppose, quelle que soit l'origine de cette toxine.

Cette constatation implique l'unicité de nature du, ou des antigènes toxiques.

De plus, un antisérum staphylococcique manifeste le même pouvoir neutralisant vis-à-vis de la toxine, et fait disparaître en même temps sa propriété hémolytique, son action nécrotique, son pouvoir léthal. Un mélange toxi-antitoxine, neutre vis-à-vis des globules rouges de lapin, l'est certainement pour les cellules dermiques ou pour les

organes du lapin. La formation du, ou des divers anti-corps renfermés dans le sérum marche donc de pair au cours de l'immunisation.

Nous avons dit, plus haut, qu'un mélange hémolytiquement neutre de toxine et d'antitoxine staphylococcique était *ipso facto* dépourvu de tout pouvoir de provoquer un désordre général.

Il peut arriver, dans des cas extrêmement rares (et nous n'avons jamais pu faire pareille constatation) que ces mélanges rigoureusement neutres soient encore toxiques pour l'animal. Ces cas exceptionnels font supposer à P. Nélis l'existence d'un composé différent de la toxine et existant dans les mélanges (paratoxine?). On peut se demander aussi s'ils ne sont pas dus à des accidents d'hypersensibilité à une substance sécrétée par le staphylocoque, présente à la fois dans le milieu et l'organisme animal.

*
* *

L'application, à la toxine staphylococcique, des méthodes couramment employées en immunologie nous met donc en main un sérum antitoxique obtenu par injection au cheval de toxine et d'anatoxine staphylococciques.

Ce sérum neutralise, également, proportionnellement à la fois, les propriétés hémolytiques, dermonécrotiques et léthales de la toxine staphylococcique.

CHAPITRE IV

Existence du phénomène de floculation spécifique dans les mélanges de toxine et sérum staphylococciques

Dès que nous avons été en possession de toxine et de sérum actifs, nous avons recherché, sous l'inspiration de M. H. Bonnet, s'il était possible de retrouver le phénomène de floculation en mélangeant ces éléments en proportions convenables.

Au cours de ses recherches sur la staphylotoxine, F.-M. Burnet avait déjà décrit dès 1931, un phénomène de floculation et démontré qu'il avait le même aspect, la même signification, que le phénomène de floculation décrit pour la première fois en 1922 par M. G. Ramon, à propos de la toxine et de l'antitoxine diphtériques.

Les premiers résultats que nous avons obtenus, en novembre 1934, en employant des filtrats de culture à longue incubation et un sérum de cheval (sérum 946) obtenu par injection de toxine et de staphylocoques tués, nous avaient réservé quelques surprises.

Le phénomène s'observait sous forme de floculation très fine, plutôt en petits grains difficilement agglomérés, qu'en

floculats de volume rapidement croissant. C'était un phénomène d'apparition précoce, net dès la première demi-heure, parfois les premières minutes, souvent étendu presque simultanément à plusieurs tubes.

Ce phénomène n'était nullement comparable à celui qui a été décrit pour les autres toxines. Ni l'aspect du floculat, ni son temps d'apparition ne l'apparentent à la floculation des mélanges toxine-antitoxine diphtérique.

Le mélange qui correspondait, dans les expériences précédentes, à la « floculation initiale » n'était, d'ailleurs, pas *neutre*.

Il possédait encore un pouvoir hémolytique certain, produisait la nécrose cutanée, même à faible dose et tuait encore l'animal d'expérience.

Ce phénomène est cependant spécifique. Mais il ne correspond pas à une véritable floculation. Il témoigne, vraisemblablement, d'une interréaction entre un antigène et un anticorps microbiens, mais différents de la toxine et de l'antitoxine staphylococciques que nous avons en vue.

C'est plus tard que nous avons pu retrouver, avec tous ses caractères habituels, le phénomène de floculation en employant, d'une part, des toxines actives (filtrats de cultures de 4 à 10 jours sur le milieu décrit et en atmosphère de CO^2), d'autre part, un sérum purement antitoxique (sérum 80 de M. Ramon) obtenu par injection au cheval de la seule toxine staphylococcique.

Dans ces conditions, la floculation a son aspect, ses caractéristiques, sa signification habituels.

Pour la mettre en évidence, on peut répartir dans une série de tubes une quantité fixe de toxine, par exemple 5 cc. et des quantités décroissantes de sérum (préalablement dilué de façon convenable et titrant, par exemple, 50 unités antitoxiques au cm^3).

On prépare la série des mélanges suivants :

Toxine :	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	0
Sérum :	2	1,8	1,6	1,4	1,2	1	0,9	0,8	0,7	0,6	0	1
N° du tube :	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12

Après avoir agité les mélanges, on les porte à l'étuve ou au bain-marie, à la température de 45°.

En examinant de temps à autre les mélanges, on se rend compte que le contenu de certains d'entre eux apparaît opalescent. A un moment donné, après environ 2 heures d'incubation, dans un des tubes (tube 6 par exemple) de petits grains apparaissent. Ces grains grossissent, s'agglomèrent, la floculation est bientôt franche. C'est la *floculation initiale*.

Cette floculation initiale est suivie d'autres floculations qui toucheront, par exemple, les tubes 7, 8, 5 et 4 successivement, et qui suivent la première à 5, 10, 20 et 30 minutes. A une lecture tardive apparaît une zone de floculation. Le lendemain tous les mélanges se sont éclaircis, les floculats occupant le fond des tubes. C'est dans le tube de floculation initiale que le dépôt est le plus abondant.

Ce phénomène de floculation est rigoureusement spécifique. En mettant en présence de la toxine du sérum antidiphtérique, antigangréneux, antiméningococcique, du sérum normal... nous n'avons observé aucune modification des mélanges qui ressemblât de loin à une floculation.

Cette notion de floculation, et surtout de *floculation initiale*, acquiert ici, comme pour la diphtérie, une valeur considérable. On peut, en effet, s'assurer par l'expérimentation que le mélange où s'est manifesté la floculation *initiale* est rigoureusement neutre.

Il a perdu tout pouvoir hémolytique, alors que la toxine employée dans l'expérience hémolyse encore les globules de lapin jusqu'à 1/1000-1/2000 et plus.

Injecté dans le derme du lapin, il n'y provoque aucune réaction, alors que, par exemple, il suffit d'introduire, chez le même animal, 1.2000 cc. de toxine pour provoquer la nécrose.

Injecté dans les veines, dans les espaces sous-arachnoïdiens, même à dose massive, ce mélange ne produit aucun accident ni immédiat, ni retardé ; alors qu'il suffit de quelques dixièmes de cm^3 de toxine pour provoquer la mort en quelques minutes.

Dans le mélange de floculation initiale, en effet, la toxine du filtrat et l'antitoxine du sérum se sont mutuellement annihilées dans leur action propre. Suivant l'expression de M. G. Ramon, il y a saturation aussi complète que possible. De part et d'autre du mélange de floculation initiale cet état de neutralité n'existe pas, la saturation est incomplète ; ou bien le mélange est toxique, ou bien il est antitoxique.

Nous voudrions, en terminant, insister sur le fait qu'à plusieurs reprises, il nous est arrivé d'être gênés dans l'interprétation de nos résultats par l'existence d'une double zone de floculation, une des floculations apparaissant en pleine zone toxique. On appréciera facilement dans ces cas la floculation initiale valable en ajoutant dans chaque tube une goutte d'hématies de lapin. La floculation initiale vraie est toujours celle qui apparaît dans la zone des tubes non hémolysés.

Voici par exemple, comment nous déterminons, dans ce cas, la floculation valable (toxine 20, sérum titrant 50 unités par cc.).

Toxine 20 en cm³ :	5	5	5	5	5	5	5	5
Sérum en cm³ :	1,2	1,1	1	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4
Floculation :		3H						3H
+ 1 goutte d'Hématies au 1/3								
Hémolyse :	o	o	o	o	+	+	+	+

Il faut prendre comme « tube de floculation initiale » celui du mélange : toxine 5 cc. + sérum 1,1 cc.

Avec ces précautions, la réaction de floculation a donc la même signification biologique qui lui avait été démontrée en étudiant la toxine et l'antitoxine diphtériques.

Nous verrons qu'elle est également susceptible de recevoir des applications pratiques capitales.

CHAPITRE V

L'anatoxine staphylococcique

C'est à F.-M. Burnet (1929) que nous devons la première transformation de la toxine staphylococcique en son dérivé anatoxique.

L'anatoxine staphylococcique est, rappelons-le, un dérivé de la toxine. Son obtention se fait par un procédé général mis en lumière pour la première fois par M. G. Ramon en 1922, à propos de la toxine diphtérique.

L'anatoxine n'est pas une toxine atténuée, mais un corps nouveau, dérivé de la toxine par action combinée de la chaleur et du formol, ayant perdu toutes les propriétés toxiques du filtrat qui lui a donné naissance, mais ayant gardé sa propriété d'immunisation, sa valeur antigène.

Dès que nous fûmes en possession d'une toxine assez active, nous l'avons transformée en anatoxine. Mais le produit que nous avons obtenu étant de valeur antigène assez faible, nous nous sommes servi pour l'expérimentation humaine et animale, des produits qu'a bien voulu nous transmettre ultérieurement l'Institut Pasteur de Garches.

Les anatoxines que nous avons utilisées sont préparées de la façon suivante :

La quantité de formol ajoutée à la toxine est en moyenne de 3 cc. 5 par litre (formol de commerce) ; le séjour à l'étuve dure environ une douzaine de jours à 39°-40°.

En pratique, d'ailleurs, on reste guidé dans l'appréciation des deux facteurs : durée d'incubation et quantité de formol, par la recherche des deux propriétés fondamentales que doit présenter l'anatoxine : l'innocuité et la valeur antigène intrinsèque.

I. — *L'innocuité de l'anatoxine staphylococcique* ne doit pas être relative mais absolue.

L'anatoxine staphylococcique doit donc :

— avoir perdu toute capacité de produire l'hémolyse, même à dose massive.

— avoir perdu tout pouvoir de provoquer une réaction quand on l'injecte à grande dose (1/3 cc. par exemple) dans la peau d'un lapin.

— avoir perdu tout pouvoir léthal : un lapin doit pouvoir recevoir impunément une injection intraveineuse ou sous-occipitale d'anatoxine. A ce propos, il est nécessaire, disons-le de suite, d'opérer sur des animaux neufs et vierges de toute immunité antitoxique naturelle. La présence d'antitoxine naturelle fausserait les résultats et rendrait inopérant le contrôle de l'innocuité.

Par définition même, une anatoxine doit être soumise à ce triple contrôle pour mériter ce nom.

Dans toutes les nombreuses expériences pratiquées sur l'animal, nous avons observé une fois la mort en 24 heures après injection sous-cutanée de 1 cc. d'anatoxine ; le même jour, d'ailleurs, d'autres injections avaient été pratiquées à d'autres animaux sans provoquer le moindre symptôme anormal. Aucune lésion visible n'a été trouvée à l'autopsie. Nous tenons à signaler ce cas, qui nous a frappé par le fait même de son caractère d'extrême exception. Il ne met nullement en doute, à notre avis, l'innocuité de l'anatoxine employée. Nous le rapprocherions, volontiers, des réactions

paradoxales observées après injection de mélange neutre de toxine et antitoxine. Dans les deux cas, ces accidents sont dus, sans doute, à une hypersensibilité particulière aux protides du staphylocoque.

II. — *L'innocuité* seule ne suffit pas à caractériser l'anatoxine.

Elle comporte, dans son principe, celle de *valeur antigène intrinsèque*, valeur d'immunisation sur laquelle nous nous sommes expliqués précédemment et qui nous est révélée par la floculation.

La valeur antigène de l'anatoxine est exprimée, exactement comme celle de la toxine, en fonction de l'unité antitoxique. Elle correspond à la quantité d'unités antitoxiques capable de faire apparaître la floculation initiale dans 1 cc. d'anatoxine.

Si, par exemple, il faut opposer à 1 cc. d'anatoxine, 12 unités antitoxiques pour observer la floculation initiale, nous dirons avoir affaire à une anatoxine dont la valeur antigène est de 12 unités antigènes.

Dans la réaction anatoxine-antitoxine, l'anatoxine a une vitesse de floculation toujours inférieure à celle de la toxine qui lui a donné naissance.

Dans le dosage de l'anatoxine, on peut joindre à la réaction de floculation la recherche du pouvoir de combinaison de l'anatoxine vis-à-vis de l'antitoxine ; procédé que M. G. Ramon emploie toujours conjointement à la méthode de floculation pour apprécier le pouvoir antigène intrinsèque d'une anatoxine. Le pouvoir de combinaison subit, lors de la transformation de la toxine en son dérivé anatoxique, une baisse variable suivant le milieu employé dans la fabrication de la toxine.

Innocuité, pouvoir antigène sont les deux caractéristiques

principales de l'anatoxine staphylococcique, et de toutes les anatoxines, en général.

Comme celles-ci, l'anastaphylotoxine possède encore un certain nombre de propriétés intéressantes : l'irreversibilité, la résistance à la chaleur.

*
* *

On peut donc conclure que l'action combinée du formol et de la chaleur transforme la toxine staphylococcique en une *anatoxine* vraie, corps nouveau différent de la toxine, par la perte complète des propriétés hémolytiques, nécrotiques, léthale qui caractérisent le filtrat, possédant par contre un pouvoir d'immunisation important (environ 9/10 de celui de la toxine).

L'appréciation du pouvoir antigène intrinsèque se fait facilement, exactement, rapidement par le procédé de floculation qui permet de définir l'anastaphylotoxine en unités antigènes.

CHAPITRE VI

Titrage de l'activité des toxines et sérums

Jusqu'à la fin du siècle dernier on s'est fort peu inquiété de titrer l'activité des toxines et des anti-sérums. Mais, après l'accident de Bundaberg, de nouvelles recherches précisent la préparation de la staphylotoxine, l'immunisation des animaux, l'usage du sérum et de l'anatoxine et les modifications sérologiques des malades soumis à la thérapeutique spécifique.

Sachant que toutes les propriétés connues de la toxine sont neutralisées quantitativement et qualitativement par le sérum spécifique, autrement dit que l'unicité de la toxine se reflète dans l'antitoxine, on a utilisé l'une ou l'autre des propriétés fondamentales de la toxine (pouvoir hémolytique, dermonécrotique, léthal) pour le titrage ou du sérum ou de la toxine.

Mais, jusqu'en 1934, chaque expérimentateur était obligé, pour comparer et confronter ses résultats, de recourir à un étalon personnel. Chaque laboratoire ayant son étalon particulier, tout essai de coordination des résultats globaux était de ce fait, impossible.

Voici, par exemple, les divers étalons qu'avaient adoptés les chercheurs : Cette énumération rendra compte de la confusion qui résulte d'un grand nombre d'unités.

F.-M. Burnet, dose la toxine en déterminant la dose mi-

nima hémolytique vis-à-vis d'une quantité fixe de globules rouges de lapin et adopte comme sérum étalon un échantillon dont 1 cc. neutralise 8.000 D. M. H. d'une toxine arbitrairement choisie. L'unité antitoxique est donc représentée par 1/8000 cc. de ce sérum.

Gross adopte également un volume défini d'un sérum particulier.

Parish et Clark se reportent à un sérum antistaphylococcique donné et expriment la valeur des autres sérums par rapport au sérum étalon.

Enfin, d'autres chercheurs évaluent l'activité des sérums en déterminant la dose nécessaire pour neutraliser une quantité fixée d'une toxine arbitrairement choisie.

Une unification des méthodes de titrage était donc nécessaire. C'était la seule façon de tirer le maximum de données sur la valeur comparée de divers sérums, sur le pouvoir antigène des anatoxines, sur le degré d'immunité accordée aux sujets soumis à la thérapeutique spécifique.

Tout récemment, le Comité d'Hygiène de la Société des Nations a accepté, sur la proposition du *Medical Research Council,* après adoption de la Commission permanente de Standardisation biologique, une unité antitoxique standard.

L'unité de sérum antistaphylococcique est définie « l'activité spécifique « neutralisante » vis-à-vis de la staphylotoxine contenue dans 0,5 mg. de la préparation étalon ».

Depuis la création de l'étalon, presque tous les auteurs l'ont adopté pour annoncer leurs résultats expérimentaux.

Tout dernièrement encore, on jugeait une staphylotoxine sur deux points : pouvoir toxique, pouvoir neutralisant. Dans l'une et l'autre de ces déterminations, on peut employer comme indicateurs des réactions des procédés « *in vitro* » (hémolyse) ou des procédés « *in vivo* » (mort de l'animal, nécrose cutanée) ; mais préférence doit être donnée à la méthode générale de floculation, qui a trouvé ici

une de ses applications et dont nous voudrions montrer tous les avantages. Elle seule permettra, en effet, d'apprécier le « pouvoir immunisant » d'une toxine.

I. — DÉTERMINATION DU POUVOIR TOXIQUE

A) Par la méthode hémolytique : *Dose minima hémolytique*

Tout revient à déterminer la plus petite quantité de toxine qui provoque encore l'hémolyse d'une quantité fixe d'hématies de lapin. Au cours de toutes nos recherches, nous avons utilisé pour la détermination de la D. M. H. des hématies fraîchement préparées de lapin (1/20 cc. d'hématies au 1/3).

B) Par la méthode intracutanée : *Dose minima nécrosante*

Elle consiste à introduire dans le derme du lapin sous volume constant, la toxine à des concentrations différentes. La plus petite dose de toxine nécessaire pour réaliser la nécrose cutanée correspond à la D. M. N.

C) Par la méthode d'inoculation aux animaux :

Dose minima mortelle

Nous n'en avons aucune expérience personnelle. Certains auteurs, dont Travassos, s'en servent et considèrent comme D. M. M. « la plus petite quantité de toxine qui inoculée par voie trans-oculaire dans le cerveau des cobayes de 250 à 350 gr. produit systématiquement leur chute avec mouvements tétanisants dans les 30 premières minutes et la mort dans les 24 heures. »

A titre d'exemple, voici la détermination de la D. M. H. et D. M. N. d'une de nos toxines (Tox. 14).

Pour la détermination de la D. M. H., chaque tube est ramené, avant addition d'une goutte d'hématies, au volume de 2 cc.

La lecture est faite après une heure d'étuve.

Les résultats suivants permettent de fixer la D. M. H. à 1/1000.

Toxine 14 :	0,1	0,05	0,02	0,01	0,005	0,002	0,001	0,0005	0,0002
Hémolyse :	+	+	+	+	+	+	+	±	o

Pour la détermination de la D. M. N., un lapin reçoit sous le volume de 1/10 cc. les doses suivantes de toxine par injections intra-dermiques. La lecture est faite 48 heures après l'injection. Elle fixe la D. M. N. entre 1/750 et 1/1000.

Flanc gauche		Flanc droit
1/50 1/100 1/200	Nécrose	1/500 — Nécrose. 1/750 — Grosse papule, petite zone de nécrose. 1/1000 — Rien.

II. — DÉTERMINATION DU POUVOIR NEUTRALISANT : DOSES TESTS

Le principe est de mettre en présence toxine et antitoxine, en recherchant la proportion qui correspond apparemment à la neutralité du mélange. Partant d'un sérum dont le titre, en unités antitoxiques a été déterminé préalablement, suivant les conventions internationales établies, il est possible de déterminer la quantité de toxine nécessaire pour neutra-

liser l'unité antitoxique ou une fraction de cette unité. C'est à cette quantité de toxine qu'on réserve le nom de dose d'épreuve ou dose-test.

Suivant qu'on emploiera, pour indiquer la réaction de neutralité, le procédé d'hémolyse, de nécrose cutanée... on définira pour la toxine la dose test hémolytique, la dose test cutanée.

Inversement, quand on possède une toxine dont la dose-test hémolytique est connue, la quantité de sérum nécessaire pour inhiber le pouvoir hémolytique de la dose test contient une unité antitoxique et nous avons ainsi un procédé de dosage du sérum antitoxique.

Les déterminations des doses d'épreuves d'une toxine s'établissent donc de la façon suivante :

A) *Par la méthode hémolytique.*

Nous employons la méthode que nous a communiquée M. P. Nélis :

Dans une série de tubes on porte respectivement des doses croissantes de toxine et l'unité antitoxique internationale. On ramène tous les tubes au volume de 2 cc. par addition d'eau physiologique. Après contact de 20 minutes, une goutte d'hématies de lapin est ajoutée dans chaque tube. Les tubes portés à l'étuve pendant une heure sont ensite laissés pendant le même temps à la température du laboratoire. La dose test est représentée par la plus petite quantité de toxine qui produit encore l'hémolyse quand on lui ajoute une unité antitoxique.

Voici, par exemple, la détermination de la D. T. H. de la toxine 38 : 0,13.

Unité antitox. :	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
Toxine :	0,09	0,1	0,11	0,12	0,13	0,14	0,15	0;16	0	0;1
Hémolyse :	0	0	0	0	+	+	+	+	0	+

B) *Par la méthode intradermique.*

Il faut employer pour l'injection intradermique des petites quantités du mélange. Aussi, au lieu de rapporter la dose test cutanée à l'unité antitoxique, on l'oppose au 1/10 d'unité antitoxique. La dose d'épreuve cutanée devient donc la quantité de toxine qui, mélangée à 0,1 unité de sérum, détermine sur le cobaye une nécrose cutanée légère mais caractéristique, les résultats étant lus 24 à 48 heures après l'injection.

Par exemple, la dose test cutanée de la toxine 53 est fixée à 0.036 à la suite de l'expérience ci-dessous (Nélis).

Sérum en Unités :	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Toxine :	0,027	0,03	0,033	0,036	0,039	0,042
Réaction observée :	0	0	0	Nécrose	Nécrose	Nécrose

C) *Par la méthode de l'inoculation aux animaux.*

La dose d'épreuve utilisée dans la méthode intraveineuse est la quantité de toxine qui, mélangée à une unité de sérum et injectée dans la veine caudale de la souris, tue dans les 3 jours la moitié des animaux inoculés.

La technique de la méthode intrapéritonéale est la même.

Nous n'avons pas eu l'occasion de recourir à ce mode de dosage de la toxine.

Il va sans dire qu'une fois en possession d'une toxine dont la dose test a été déterminée, rien n'est plus facile que le titrage d'un sérum de titre inconnu.

L'exemple suivant donne assez d'éclaircissements sur ce sujet :

Détermination du pouvoir antitoxique d'un sérum J. par

la méthode hémolytique au moyen d'une toxine de D. T. H. =-0,17.

Toxine:	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17	0	
Sérum:	0,08	0,07	0,06	0,05	0,04	0,035	0,03	0,25	0,20	0	0,08	
Hémol.:	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+	0	

Le sérum J. contient de $\frac{1}{0,035}$ à $\frac{1}{0,03}$ unités par cc., soit environ de 28 à 33 unités par cc.

***

L'exposé de ces méthodes de dosage de la toxine et du sérum appellent un certain nombre de remarques.

D'abord, observe-t-on une corrélation entre les résultats donnés par ces diverses manières d'apprécier le pouvoir toxique ou antitoxique d'un filtrat ou d'un sérum? Dans l'ensemble, en consultant le rapport de la Commission de standardisation biologique, on voit que les diverses méthodes de titrage reposant sur l'action hémolytique des mélanges toxine-antitoxine, ou sur l'injection intra-cutanée, ou sur l'injection à l'animal, fournissent des résultats concordants.

On peut donc recourir à chacune de ces méthodes isolément et employer celle qui apparaît la plus pratique, mais en se mettant à l'abri d'un certain nombre de critiques.

1° Le procédé hémolytique, le plus courant, le plus facile, exige l'emploi d'hématies fraîches, soigneusement lavées à deux reprises à l'eau physiologique, distribuées avec une pipette soigneusement calibrée.

La lecture de l'hémolyse est un point capital. Certains

apprécient les degrés de l'hémolyse ; d'autres exigent une hémolyse complète. Chaque chercheur se posant, à ce sujet, une convention personnelle, les résultats des divers laboratoires peuvent être très différents, varier du simple au double. Nous ne tenons compte que de l'hémolyse *complète*.

2° Les procédés de dosage *in vivo*, utilisant soit la voie dermique soit la voie intraveineuse, nous avaient, comme à beaucoup d'auteurs, réservé quelques surprises. Il arrive de temps en temps qu'un animal ne réagisse que très peu ou même pas, à l'injection de produits toxiques. Aucune des explications proposées ne nous paraissait satisfaisante. M. G. Ramon a montré que ces animaux réfractaires étaient précisément ceux qui possèdent une immunité antitoxique naturellement acquise.

D'où la nécessité absolue, avant toute recherche *in vivo*, d'employer, non seulement des animaux neufs, mais encore préalablement soumis à un contrôle sérologique.

Nous en arrivons à une deuxième critique de ces méthodes.

Toutes explorent isolément l'activité du pouvoir toxique du filtrat, ne préjugent en rien d'une autre qualité, autrement importante, la seule qui, pratiquement, doit guider l'expérimentateur. Nous voulons parler de la capacité de produire l'immunisation, autrement dit la valeur antigène de la toxine, ou suivant l'expression de M. G. Ramon, son *pouvoir antigène intrinsèque*.

Cette propriété antigène mérite d'être formellement séparée des propriétés toxiques d'un filtrat. Sous certaines influences, les propriétés toxiques peuvent s'atténuer. Elles sont essentiellement instables. Elles peuvent, même, disparaître complètement d'un filtrat sans que pour cela les propriétés antigéniques soient modifiées. Ainsi, par exemple,

une toxine transformée en anatoxine perd toute propriété hémolytique, ne donne aucune réaction quand on l'introduit dans le derme de l'animal, est entièrement inoffensive à doses massives. Elle garde, cependant, presque intacte, la propriété antigénique de la toxine qui lui a donné naissance.

Comme pour la toxine diphtérique, le phénomène de floculation nous donne les plus grandes facilités pour le dosage du pouvoir antigène intrinsèque d'une toxine staphylococcique ou de la teneur en unités antitoxiques d'un sérum.

III.— DÉTERMINATION DU POUVOIR ANTIGÈNE PAR LA FLOCULATION

Nous avons indiqué, précédemment, que si l'on prépare une série de mélanges du filtrat staphylococcique et de sérums spécifiques en proportions variables, l'apparition de la floculation initiale signale à l'expérimentateur le mélange dans lequel la toxine et l'antitoxine se sont mutuellement, exactement saturées.

De cette constatation, il résulte que, connaissant la valeur de l'un de ces éléments en présence, dans la réaction de floculation, il sera facile d'apprécier la valeur de l'autre.

Connaissant, par exemple, le titre d'un sérum, on connaît par la floculation initiale le nombre d'unités antitoxiques nécessaires pour neutraliser 1 cc. de toxine et cette quantité d'U. A. T. exprime en unités antigènes la valeur de la toxine.

Lorsqu'on se propose d'évaluer par la floculation le pouvoir antigène de la toxine staphylococcique, il est avant tout indispensable de disposer d'un sérum étalon. Celui dont nous nous sommes servis est un sérum de cheval hyper-

immunisé par les soins de M. G. Ramon, au moyen de la toxine staphylococcique.

Pour la conservation, ce sérum a été desséché : 1 gr. de sérum sec, dissous dans 9 cc. d'eau donne une solution dont 1 cc. titre exactement 250 unités antitoxiques internationales.

Après une série d'essais, nous avons adopté la technique suivante, d'ailleurs calquée sur celle utilisée couramment pour la mesure de la valeur antigène intrinsèque de la toxine et de l'anatoxine diphtérique.

On prépare une série de tubes contenant 5 cc. de filtrat staphylococcique dans lequel il s'agit de doser la toxine. On ajoute ensuite dans chacun de ces tubes des volumes décroissants : 1,6, 1,4, 1,2, 0,8, 0,6 cc.; etc... d'une dilution au 1/5 de sérum étalon, solution renfermant donc 50 unités antitoxiques par cc.

Après avoir bien mélangé, on porte à l'étuve ou au bain-marie à la température de 45°. On examine de temps en temps les mélanges de façon à surprendre le début de la floculation initiale. Celle-ci apparaît-elle dans le mélange contenant 5 cc. de toxine et 1 cc. de dilution de sérum, soit 50 unités, il faut, d'après le principe même de la floculation, 50 unités antitoxiques pour neutraliser exactement 5 cç. de toxine ; c'est-à-dire 10 unités antitoxiques pour 1 cc. de toxine. Le titre de la toxine est donc égal à 10 unités antigènes.

Pour éviter les calculs à chaque opération, on prépare une table de titrage valable pour tous les dosages effectués dans les mêmes conditions et avec le même sérum étalon.

Quant. de toxine :	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Doses de sérum en cm³ :	2	1,6	1,4	1,2	1	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5
Titre de la toxine en unités antig. :	20	16	14	12	10	9	8	7	6	5

Dans la pratique, il suffit de constater l'apparition de la floculation initiale et de consulter cette table ; le chiffre placé au-dessous de celui qui correspond à la dose de sérum ayant fait apparaître la floculation initiale donne la valeur de la toxine en unités antigènes.

De même que, dans les mélanges de toxine et d'antitoxine diphtérique, la vitesse d'apparition de la floculation initiale est ici en relation, d'une part avec le sérum utilisé, d'autre part avec le pouvoir antigène de la toxine ; elle est d'autant plus grande que celui-ci est plus élevé. Par exemple, avec le sérum étalon, employé à 45°, la floculation initiale apparaît en quatre heures pour un échantillon titrant 5 unités ; en 2 heures pour un échantillon titrant 10 unités.

On peut se demander quelle est la relation existant entre la valeur antigène de la toxine déterminée par la méthode de floculation et la valeur de certaines autres propriétés de la même toxine. Dans une série d'essais, en recherchant pour chaque échantillon le pouvoir antigène intrinsèque par floculation, la D. T. H., la D. M. H., la D. M. N., on s'aperçoit qu'il existe une relation très nette entre les valeurs en unités antigènes de floculation et en doses test hémolytiques. La relation est beaucoup moins étroite entre ces deux valeurs et les pouvoirs minima hémolytique et minima dermotoxique.

Et ceci n'est pas pour nous surprendre, étant données les causes d'erreurs qui peuvent entacher ces dernières déterminations.

DEUXIÈME PARTIE

Recherches expérimentales sur l'immunité antistaphylococcique et la pathogénie de la maladie staphylococcique

La connaissance des propriétés toxiques du filtrat et les résultats souvent heureux de la thérapeutique par l'anatoxine nous mettent, à l'heure actuelle, devant un problème d'une grande importance théorique.

Ce qui caractérise de façon particulière l'infection staphylococcique humaine et expérimentale, c'est, précisément, la multiplicité des lésions suppuratives au niveau de tous les organes, dont les plus souvent atteints sont les reins et les poumons. On y décèle des abcès miliaires innombrables, des noyaux d'infarctus suppurés très fréquents, en somme une altération nécrobiotique septique dans des foyers où le staphylocoque pullule.

Or, que nous apprennent les travaux faits depuis 1895 sur le rôle pathogène du staphylocoque?

Que le germe sécrète *in vitro*, et aussi *in vivo*, une toxine à puissante action cytolytique, capable, à elle seule, de tuer rapidement l'animal. Non seulement le staphylocoque est doué de virulence, mais à côté de cette qualité en prend place une autre aussi importante : la toxicité, due à un produit diffusible parfaitement défini dans ses propriétés fondamentales.

Que nous enseignent les résultats de la thérapeutique antitoxique dans les staphylococcies?

Qu'un animal peut être protégé partiellement, ou même prémuni, contre l'action du microbe, par une thérapeutique préventive purement *antitoxique*.

Qu'un individu, atteint de staphylococcie, voit souvent la maladie s'atténuer ou guérir grâce à des injections d'anatoxine qui créent chez lui une immunité purement *antitoxique*.

Ce n'est pas sans étonnement qu'on voit s'ébaucher entre deux maladies, apparemment aussi foncièrement différentes que la diphtérie et la staphylococcie, une certaine analogie.

Tout en acceptant cette comparaison, nous nous sommes demandés quelles en étaient les limites.

Pour nous rendre compte du rôle de la toxine dans la staphylococcie humaine, l'examen clinique est d'un bien faible secours. Si les travaux de laboratoire n'avaient pas attiré l'attention, il est probable que cette question n'aurait pas même été soulevée.

C'est surtout par des procédés indirects que nous avons essayé d'éclaircir la question en recherchant si, au cours de la vie normale et pathologique, des modifications immunologiques apparaissaient dans un organisme sollicité par les sécrétions de microbes saprophytes ou pathogènes.

CHAPITRE PREMIER

La toxicité envisagée du point de vue clinique

Il ne paraît pas douteux que l'élaboration de toxine se fasse *in vivo* par le staphylocoque. Il est évident, par exemple, qu'on doit lui attribuer la nécrose cutanée qui entoure directement le foyer microbien dans les staphylococcies cutanées.

L'accident désastreux de BUNDABERG (qui causa la mort de douze enfants, à la suite de l'injection d'un mélange de toxine-antitoxine diphtériques contaminées par le staphylocoque doré) a fait ressortir la gravité de l'intoxication aiguë, par une toxine élaborée directement *in vivo* de façon massive.

De même, l'injection à fortes doses d'une culture à un lapin provoque la mort en quelques heures sans qu'on retrouve de lésions apparentes. La rapidité de l'évolution fait penser plus à une toxémie qu'à une septicémie.

Si l'on écarte ces faits, qui sont en marge des conditions habituelles de contamination, l'allure des manifestations staphylococciques est toute différente.

Il est rare qu'on évoque directement l'intervention d'un « facteur toxique » au lit d'un malade atteint de staphylococcie.

Dans les staphylococcémies sévères, telles les septicémies que nous rapportons plus haut, l'allure habituelle est celle

d'une infection profonde d'évolution subaiguë avec des localisations suppurées multiples.

L'ostéomyélite aiguë, peut s'accompagner, au début, de signes généraux graves, elle prend cependant assez vite l'allure évidente d'une suppuration localisée.

Dans certains cas, cependant, la toxicité est « évoquée » devant certaines septicémies d'allure subaiguë, à point de départ endocarditique. De même certaines ostéomyélites foudroyantes à réaction locale minime et presque uniquement traduites par la sidération de l'organisme, sont depuis longtemps connues sous le nom d' « ostéomyélite toxique ».

Quelques observations font penser que des érythèmes scarlatiniformes traduiraient une diffusion de la toxine au cours d'une staphylococcie localisée. Stevens rapporte avoir observé un semblable érythème au cours d'un phlegmon amygdalien à staphylocoques. L'injection de sérum antistaphylococcique produisait spécifiquement une réaction d'extinction.

Cette observation est restée unique. Nous avons eu l'occasion de rencontrer un de ces exceptionnels exanthèmes au cours d'une staphylococcie, et n'avons pu reproduire le phénomène d'extinction par injection de sérum.

En clinique, nous n'avons pas affaire tous les jours à de semblables affections, mais à des localisations cutanées, osseuses ou viscérales, qui peuvent retentir gravement sur l'état général, sans prendre une allure suraiguë, toxique.

Tout au contraire, l'affection staphylococcique évolue bien souvent sans retentir notablement sur l'état général.

*
* *

Le rôle de la toxine staphylococcique en pathologie humaine est probable et nous verrons, plus loin, comment on

a pu l'envisager. Mais, en tout cas, il ne ressort pas avec netteté de l'observation clinique courante.

C'est donc indirectement que nous avons essayé de nous faire une idée sur le rôle de la toxine.

Nous nous sommes demandé si l'organisme porteur de germes staphylococciques ne réagissait pas, par la production d'antitoxique spécifique, aux sollicitations occultes de l'antigène toxique élaboré *in vivo*. C'est dans ce but que nous avons exploré l'immunité naturelle de l'homme et de diverses races animales.

On sait, d'autre part, que dans beaucoup de maladies infectieuses le sérum renferme des substances « sensibilisatrices » capables de lyser l'antigène qui leur a donné naissance. Nous avons recherché si dans l'infection staphylococcique l'antigène dominant est le microbe ou la toxine.

Enfin, nous avons recherché si l'homme ayant hébergé le staphylocoque, est, de ce fait, sensibilisé aux sécrétions toxiques du germe, en recherchant une preuve de cette sensibilité par la réaction du derme à l'injection de filtrat.

C'est la technique et le résultat de ces recherches que nous exposons dans les chapitres suivants :

1° Immunité antitoxique naturelle.

2° Réaction de déviation du complément dans les affections staphylococciques.

3° Intradermoréaction à la toxine staphylococcique.

CHAPITRE II

L'immunité antitoxique naturelle

(en dehors de toute immunisation active ou passive)

La recherche d'une immunité antitoxique naturelle contre le staphylocoque est grosse d'intérêt à divers points de vue.

C'est le point de départ nécessaire, le terrain de comparaison indispensable, quand on étudie les effets de l'immunisation active et passive. C'est aussi une contribution intéressante au problème général de l'immunité et de l'immunisation naturellement acquises.

Au cours de nos recherches, nous avons eu l'occasion d'examiner le sérum d'un grand nombre de sujets normaux, atteints d'affections staphylococciques, et le sérum de beaucoup d'animaux de laboratoire.

Notre expérience résulte de plusieurs centaines de dosages.

Nos résultats s'accordent entièrement et sont largement complétés par ceux des autres auteurs qui se sont occupés de la question: MM. Nélis, Ramon, Glenny et leurs collaborateurs.

*
* *

Indiquons d'abord les méthodes et les techniques em-

ployées pour la recherche et le dosage de l'antitoxine staphylococcique.

Les diverses propriétés de la toxine : pouvoir hémolytique, dermonécrotique ou floculant peuvent être, *a priori*, utilisés dans ces opérations. En réalité, la méthode de floculation est, ici, sans intérêt pratique. Elle ne peut être utilement employée que pour des sérums d'un titre antitoxique élevé. En matière d'immunité naturelle, on manipule des sérums à faible teneur antitoxique, le temps d'apparition de la floculation initiale est trop long pour que la méthode ait encore une utilité.

Dans nos essais, la recherche et le dosage de l'antitoxine ont été faits, soit par la méthode hémolytique, soit par la méthode intradermique. Nous nous sommes assurés, d'ailleurs, que ces deux procédés donnent des résultats comparables, à la condition expresse de prendre certaines précautions que nous exposerons chemin faisant.

MÉTHODE HÉMOLYTIQUE.

Les produits à utiliser sont :

1° Une toxine dont la dose test hémolytique a été rigoureusement et récemment déterminée.

2° Le sérum à étudier. Mais, à ce sujet, une remarque s'impose. La plupart des sérums humains, beaucoup de sérums animaux, même dilués, hémolysent les globules rouges de lapin. Cette propriété hémolytique, due à une sensibilisatrice « anti-lapin », rend inexacte ou impossible la lecture de l'hémolyse. Aussi avons-nous pris systématiquement le parti, dès le début de nos recherches, de chauffer, avant emploi, les sérums à 56° pendant 20 minutes. La destruction du complément empêche la propriété hémolytique de

se manifester, sans que l'antitoxine staphylococcique soit altérée.

Pour pratiquer le dosage on porte dans une série de tubes à hémolyse une quantité fixe de toxine (correspondant à la dose test ou à une fraction de celle-ci) et des quantités décroissantes du sérum à étudier. Chaque tube est ramené au volume de 2 cc. par addition d'eau physiologique et additionné d'une goutte d'hématies de lapin (lavées deux fois et diluées au 1/3). Les tubes sont agités, mis à l'étuve à 37° pendant une heure et laissés 1/2 heure à la température du laboratoire. On fait alors la lecture.

Pour simplifier, nous avons l'habitude d'employer toxine et sérum aux taux indiqués par le tableau ci-dessous, tableau sur lequel nous avons noté, par avance, la correspondance en unités antitoxiques par cm^3 de sérum. Il suffit de lire les chiffres correspondant aux deux tubes qui marquent la limite de l'hémolyse pour avoir immédiatement le titre du sérum.

Toxine en D. T. H. :	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0
Sérum en cm^3 :	1	0,5	0,2	0,1	0,07	0,05	0	0,5
Titre correspondant en U. A. T. par cm^3 :	0,1	0,2	0,5	1	1,43	2	Témoins	

Supposons, par exemple, que nous employions une toxine de dose test 0,16, nous mettrons dans chaque tube : 0,016 de cette toxine.

Si l'hémolyse s'arrête au tube contenant 0,2 de sérum, nous conclurons immédiatement que le sérum étudié contient plus de 0,2 et moins de 0,5 unité antitoxique staphylococcique par cc.

Renouvelant l'expérience avec des quantités de sérum intermédiaires, 0,45, 0,4...; 0,30, 0;25; il est possible d'arriver à une appréciation plus fine.

MÉTHODE DERMIQUE.

Elle consiste à injecter dans le derme du lapin, des mélanges de quantités décroissantes du sérum à titrer avec une quantité de toxine fixe et égale à la dose test nécrotique préalablement fixée. La lecture se fait au bout de 48 heures.

Faisons, par exemple, à un lapin l'inoculation des mélanges indiqués par le tableau suivant (toxine de dose test nécrotique 0,039).

Toxine :	0,039	0,039	0,039	0,039	0,039
Sérum :	0,2	0,1	0,08	0,05	0
Résultats :	—	—	Nécrose	Nécrose	Nécrose

On en déduira que le sérum étudié contient entre 1 et 1,25 unité antitoxique par cc.

En réalité, cette méthode d'évaluation de l'antitoxine par la réaction dermique n'a sa valeur que si l'animal d'épreuve est dépourvu de toute immunité antitoxique naturelle. Il est donc nécessaire d'étudier auparavant, à ce point de vue, le sérum de l'animal. On peut, pour simplifier, se rendre compte de l'aptitude à réagir par une inoculation témoin de la quantité de toxine utilisée dans les mélanges.

Dans la plupart de nos recherches, nous avons utilisé la méthode hémolytique, contrôlant de temps en temps les résultats donnés par cette méthode au moyen de la technique des intradermo inoculations ; nous avons pu nous assurer, ainsi, que les chiffres apportés sont assez près du titre antitoxique réel des sérums.

*
* *

Voici les résultats obtenus :

chez l'homme (témoins et sujets atteints de maladies staphylococciques).

chez les animaux (lapins et souris).

I. — Chez l'homme normal.

43 sérums, provenant de sujets indemnes de toute manifestation staphylococcique au moment du prélèvement, ont été étudiés.

Le titre, dans 75 % des cas, est fixé entre 0,2 et 1,5 unité. Il n'a pas dépassé 2,5 unités dans les sérums examinés.

Au-dessous de 0,2 U. par cc. :	5	soit 11,6 %
Entre 0,2 et 0,5 U. par cc. :	10	soit 23,2 %
Entre 0,5 et 1 U. par cc. :	8	soit 18,6 %
Entre 1 et 1,5 U. par cc. :	5	soit 11,6 %

Ces sérums provenaient soit d'adultes, soit d'enfants de 2 à 15 ans. Nous n'avons pas observé de différence appréciable dans le titre antitoxique suivant l'âge des sujets.

Il est bien évident qu'un grand nombre de ces sujets a été en contact, à un moment quelconque de sa vie, avec le staphylocoque.

Bien qu'une enquête sur les contaminations antérieures par ce germe soit difficile à pratiquer, nous avons pu retenir chez certains des sujets examinés des antécédents nets de staphylococcie. Nous ne jugeons pas nécessaire de les séparer des autres : rien ne distingue sérologiquement les sujets exempts de toute atteinte staphylococcique antérieure et les sujets ayant présenté à longue échéance, une affection staphylococcique même sévère.

II. — Chez l'homme en cours d'affection staphylococcique.

Est-il possible de constater une modification du titre antitoxique du sérum avant tout essai d'immunisation active ou passive ?

L'examen de 90 sérums, prélevés au cours d'affections staphylococciques, permet de conclure que dans les staphylococcies cutanées, banales ou sévères, dans les septicémies, aucune différence appréciable ne se produit. Dans les ostéomyélites, par contre, le taux est parfois assez élevé (2, 3, 4 unités), mais nullement comparable à celui des sujets ayant reçu un traitement par l'anatoxine.

Enfin, nous avons eu l'occasion de rechercher la teneur du sérum en antitoxine aux diverses phases de la maladie staphylococcique évoluant vers la guérison sans aucune intervention thérapeutique. En aucun cas, il n'est apparu que l'amélioration clinique coïncidât avec une augmentation du titre antitoxique du sérum.

Mises à part les ostéomyélites, les staphylococcies évolutives sévères ou graves ne modifient donc pas nettement l'immunité antitoxique staphylococcique.

III. — Antitoxine staphylococcique naturelle chez les animaux.

Notre effort s'est porté vers cette recherche, une fois que nous eûmes entrevu l'erreur apportée aux procédés de titrage intradermique par l'antitoxine naturelle.

Nous avons eu l'occasion d'examiner le sérum de tous les lapins qui devaient nous servir aux titrages.

Ces lapins provenaient de trois élevages extérieurs au la-

boratoire et chaque fois, le titre antitoxique du sérum de chacun des animaux a été fixé dans les jours qui suivaient leur arrivée.

Pour les 10 animaux d'une 1re série : 9 sérums ne contiennent pas d'antitoxine, un seul en contient près de 2 unités.

Pour 6 animaux d'une 2e série, le titre antitoxique est respectivement : 0. 0. 0,1. 0,3. 0,3. 1,5.

Pour 15 animaux d'une 3e série : 14 fois le titre est inférieur à 0,25 unité, un seul sérum atteint 0,3 unité.

On se rend compte d'une variabilité certaine entre les divers groupements d'animaux et les divers représentants d'un même groupe.

Les taux d'antitoxine très bas, dans la grande majorité des cas, sont de temps en temps assez importants, et on peut saisir chez les animaux, d'ailleurs peu nombreux, de notre 2e série une certaine gradation dans l'immunité.

Ces variations dans le titre antitoxique du sérum s'expliquent par les belles expériences de M. G. Ramon sur l'acquisition de l'immunité antitoxique par contacts minimes et répétés avec le staphylocoque.

De cette immunisation latente, nous avons eu incidemment la preuve à plusieurs reprises. C'est ainsi que les lapins ayant séjourné dans les cages du laboratoire de la Faculté pendant un certain temps et susceptibles d'être entré en contact fortuit avec leurs congénères infectés par le staphylocoque en vue d'expériences diverses, ont présenté une augmentation de leur titre antitoxique dans les proportions et les délais indiqués par le tableau suivant :

N° du Lapin	19 Déc. 35	14 Janv. 36	3 Fév. 36
C 7	2 U.	2	>2
C 8	<1/25	0,2	1
C 9	<1/25	0,3	0,5
C 15	—	0,3	0,5 - 1

L'existence d'une immunité antitoxique naturellement acquise est donc certaine chez le lapin. Elle expose à des erreurs grossières lors des dosages du pouvoir toxique et aussi à des erreurs graves lorsqu'il s'agit de vérifier l'inocuité d'une anatoxine.

Nous avons encore recherché la présence d'antitoxine dans le sang de la *souris* (ayant un moment pensé à utiliser cet animal dans l'expérimentation des toxines et sérums).

Dans ce but nous avons sacrifié plusieurs groupes d'animaux de race (en particulier souris américaines) et de provenances diverses (élevages de divers laboratoires d'hôpitaux).

Dans chaque groupe 10 animaux étaient saignés et le sérum du sang total étudié. Dans deux cas nous n'avons pu mettre en évidence d'antitoxine staphylococcique ; dans un cas une quantité assez importante (0,2 à 0,5 unité).

De son côté, M. P. Nélis a remarqué chez le rat la présence d'antitoxine naturelle en quantité très variable.

*
* *

Grâce aux recherches multiples qui ont été faites de tous côtés, tant par M. G. Ramon et ses collaborateurs en France, que par Gross en Allemagne, Glenny et Stevens en Amérique, on est en mesure, à l'heure actuelle, de se faire une idée assez complète de l'immunité antitoxique na-

turelle parmi les différentes espèces animales. Elle est très générale, mais d'autant plus marquée qu'on s'adresse à des animaux plus exposés à des contaminations répétées par le staphylocoque. Elle croîtrait avec l'âge.

Enfin, elle n'est pas en relation avec l'existence d'autres immunités antitoxiques telles que l'immunité diphtérique ou tétanique.

Nous avons pu nous assurer de l'extrême fréquence d'une immunité latente, occulte, chez l'homme et différentes espèces animales, mais n'avons pu vérifier que la maladie staphylococcique ancienne ou récente, bénigne ou grave, aiguë ou chronique, modifiât de façon appréciable l'immunité antitoxique humorale.

CHAPITRE III

La réaction de déviation du complément au cours des affections staphylococciques

La réaction de déviation du complément, qui au cours des processus infectieux les plus divers a donné des résultats si intéressants, n'a guère été utilisée dans les affections staphylococciques.

Nous n'avons pu trouver de travail d'ensemble sur ce sujet. Il nous a paru intéressant de rechercher si la déviation du complément se manifestait, si elle était en rapport avec les modifications humorales apportées à l'organisme par l'immunisation antitoxique.

L'hypothèse de travail a été de rechercher si les infections staphylococciques développent dans le sérum des sensibilisatrices susceptibles de « lyser » les divers antigènes staphylococciques.

Dans ce but, nous avons opposé à de nombreux sérums recueillis chez les sujets normaux, atteints de staphylococcies diverses non traités ou traités par des thérapeutiques spécifiques, deux antigènes : microbien et toxique.

Dans ce but, 64 sérums ont été recueillis : les uns provenant de sujets atteints d'affections staphylococciques en pleine évolution, les autres de sujets ayant un passé staphylococcique chargé, les derniers indemnes de toute manifestation.

Nous avons aussi utilisé deux sérums thérapeutiques de chevaux : le sérum 946, préparé par injection à l'animal de

cultures totales, c'est-à-dire de corps microbiens et de toxine ; le sérum 80, obtenu par injection du filtrat de cultures, sérum titrant 350 U.A.T. par cm^3.

Les antigènes utilisés ont été :

1° L'antigène microbien, c'est un mélange de cultures jeunes (20 heures) de 5 souches de staphylocoques dorés isolés de septicémies et d'ostéomyélites. Ces cultures reprises en eau physiologique, sont centrifugées, les corps microbiens sont repris de nouveau en eau physiologique de façon à représenter une émulsion dense (10 milliards de germe au cc. environ). On chauffe finalement les suspensions microbiennes à 65° pendant une heure.

2° L'antigène toxique est une de nos toxines préparées par le procédé que nous avons indiqué : Tox. 38 de dose test 0,16. Pour faire disparaître le pouvoir hémolytique, elle est chauffée 45 minutes à 55°.

Une anatoxine (J. 14) issue d'une toxine de dose test hémolytique 0,15.

La technique a été celle de Calmette et Massol. Elle consiste, rappelons-le, à employer des quantités fixes d'antigène et de sérum, et des quantités croissantes de complément.

Après avoir laissé en contact une heure à 37°, le système antigénolytique (antigène + sérum) et le complément, on ajoute le système hémolytique (1) (sérum anti-mouton + hématies de mouton) et la série de tubes est de nouveau placée à l'étuve pendant 30 minutes. La lecture se fait alors.

Les résultats obtenus sont figurés dans les tableaux suivants.

---

(1) Système hémolytique employé : Sérum anti-mouton I. P. 8 gouttes.
Eau physiologique .... 56 gouttes.
Globules de mouton .. 30 gouttes.

Animal	Tr.	Antigène microbien			Antigène Toxique			Antitoxine du serum U.A.T.I.
		1 dose	2 doses	3 doses	1 dose	2 doses	3 doses	
Lapin C1		±	−	−	±	−	−	1/25
— C2		−	−	−	−	−	−	1/25
— C3		−	−	−	−	−	−	< 1/25
— C4		−	−	−	±	−	−	1/25
— C5		−	−	−	−	−	−	< 1/25
— C6		−	−	−	−	−	−	< 1/25
— C7		−	−	−	+	+	+	
— C8		+	−	−	+	−	−	1/25
— C9		−	−	−	±	−	−	1/25
— C10		+	−	−	+	+	±	1/25
Lapin C1	A	±	±	±	±	±	±	1,6
— C3	A	+	+	+	−	−	−	2,2
— C4	A	−	−	−	+	±	±	4,2
— C5	A	−	−	−	+	+	+	1,6
— C6	A	+	+	+	+	+	+	2,5

Nom.		Diagnostic	Traitement	Antigène microbien			Antigène toxine			Antitoxine du sérum
				1 dose	2 doses	3 doses	1 dose	2 doses	3 doses	
1	Sérum 946			—	—	—	—	—	—	60
2	Sérum 80			±	—	—	+	+	—	350
3	W	Témoin.		—	—	—	—	—	—	0,8
4	B	Staph. cut.	O	—	—	—	—	—	—	0,5
5	B	— d° —.	A	+	—	—	+	+	+	6,5
6	B	Ostéomyélite.	A	±	±	±	+	+	+	33,33
7	C	Suppuration non staphylococcique.	A	—	—	—	—	—	—	10
8	M	Ostéomyélite.	A	—	—	—	—	—	—	4
9	M	— d° —	A	+	+	+	+	+	+	7
10	D	— d° —		—	—	—	—	—	—	3,5
11	D	— d° —	A	+	—	—	+	+	+	9
12	V	Impétigo.		—	—	—	?	?	?	0,4
13	H	Témoin.		—	—	—	?	?	?	0,4
14	L	Staph. cut.	A	—	—	—	+	+	+	20
15	C	Témoin.		—	—	—	+	—	—	0,4
16	C			—	—	—	—	—	—	1,5
17	C	Furonculose.		—	—	—	—	—	—	3,3
18	L	Staphylococcie ancienne.		—	—	—	+	±	—	0,8
19	R	Témoin.		—	—	—	±	—	—	0,55
20	B	— d° —.		—	—	—	—	—	—	< 0,2
21	G	— d° —.		—	—	—	+	—	—	1,8
22	S	R.A.A.		—	—	—	—	—	—	< 0,3
23	L	Témoin.		?	?	?	—	—	—	0,4
24	C	Poliomyélite.		—	—	—	+	+	+	1,5
25	T			—	—	—	—	—	—	1,1
26	A	Furonculose.	A	—	—	—	+	+	+	6
27	R		A+S	?	?	?	+	+	+	20
28	M	Septicémie.		—	—	—	+	+	+	2,3
29	F		A	—	—	—	+	—	—	3,6
30	P	Ostéomyélite.	A	+	—	—	+	+	+	35
31	L	Témoin.		—	—	—	—	—	—	0,75
32	T	— d° —.		+	—	—	+	—	—	1
33	L	Ostéomyélite.	A	—	—	—	+	+	+	2,8

Nom.	Diagnostic	Traitement	Antigène microbien			Antigène toxine			Antitoxine du sérum
			1 dose	2 doses	3 doses	1 dose	2 doses	3 doses	
34 C	Témoin.		—	—	—	—	—	—	< 0,2
35 B	— d° —.		—	—	—	+	+	—	0,6
36 G	— d° —.		—	—	—	—	—	—	< 0,2
37 O	— d° —.		—	—	—	—	—	—	1,5
38 G	Abcès du cerveau.	A	—	—	—	+	+	+	15
39 M	Pyonéphrose.	A	—	—	—	+	+	+	1,25
40 M	Ostéomyélite.		+	—	—	+	+	+	5,5
41 M	Arthrite staphylo.		+	—	—	+	+	+	3
42 J	Ostéomyélite.	A	+	—	—	+	+	+	13,3
43 J	Septicémie staphylo.		+	—	—	+	—	—	1,5
44 C	Furonculose.		—	—	—	+	—	—	1
45 B	— d° —.	A	+	—	—	+	+	+	5
46 S	— d° —.	A	+	—	—	+	+	+	5
47 S	— d° —.	A	+	+	—	+	+	+	5
48 H	Eczéma furonculose.		+	—	—	+	—	—	1
49 G	Abcès du cerveau.	A	+	—	—	+	—	—	> 5
50 P	Tuberculose.		—	—	—	—	—	—	< 0,5
51 D	Otite.		+	—	—	+	—	—	< 0,5
52 B	Colite.		—	—	—	+	—	—	< 0,5
53 M	Otite.		+	+	—	+	+	+	2,7
54 D	Pleurésie.		+	—	—	+	+	+	1,4
55 M	Ostéomyélite.		?	?	?	+	+	+	3,6
56 D	Furonculose.		—	—	—	+	—	—	0,75
57 D	— d° —.	A	+	—	—	+	+	+	12,5
58 M	— d° —.		—	—	—	—	—	—	1,2
59 G	Orchite. Abcès du poumon.		—	—	—	—	—	—	6
60 G	Furonculose.		+	+	—	+	+	+	0,75
61 D	Abcès à paratyphiques		—	—	—	+	—	—	3
62 F	Témoin.		—	—	—	—	—	—	0,75
63 D	— d° —.		—	—	—	—	—	—	0,75
64 R	— d° —.		—	—	—	—	—	—	< 0,5
65 M	Ostéomyélite.	A	±	—	—	+	+	+	7
66 M	— d° —.		+	+	+	+	+	+	< 0,5

L'étude de ces résultats nous permet d'apporter un certain nombre de conclusions.

1° La réaction de fixation du complément existe. Elle est même fréquemment positive au cours des staphylococcies.

Mais elle ne se manifeste pas également vis-à-vis des différents antigènes. L'*antigène dérivé de la toxine* (soit sous forme de toxine chauffée, soit encore sous forme d'anatoxine) est plus actif que l'antigène composé de corps microbiens.

2° Si on envisage les rapports entre le pouvoir fixateur des sérums et leur pouvoir antitoxique, on remarque que dans l'ensemble, les sérums les plus riches en antitoxines fixent mieux le complément en présence de l'antigène, que les sérums pauvres en antitoxines.

Il y a quelques exceptions à cette règle générale. Ainsi, par exemple, les sérums 18, 39, 44, 48, 60, 66, qui titrent à peine une unité antitoxique donnent cependant en présence de la toxine et de l'anatoxine staphylococciques des réactions de fixation positives. Dans tous ces cas, il s'agit de sujets ayant un lourd passé staphylococcique.

3° Quelles sont les modifications apportées à la réaction par la vaccination à l'anatoxine ?

Elles sont souvent très importantes. C'est ainsi, par exemple, que des sujets neufs, ou que des sujets infectés de staphylocoque ne présentent aucune trace de sensibilisatrice spécifique dans le sérum. Mais à la suite de l'injection d'anatoxine, il est fréquent de voir apparaître une réaction de fixation positive non seulement vis-à-vis de l'antigène toxique, mais encore de l'antigène *microbien*.

(Lapins C. 1, 3, 4, 5, 6, 9. Sérums humains 4, 5, 8, 9, 10, 11).

Ces modifications humorales nous paraissent particuliè-

rement intéressantes à l'heure où l'on discute du rôle « indirectement antimicrobien » de l'immunité antitoxique.

L'étude de la réaction de déviation du complément au cours des staphylococcies plus qu'un intérêt pratique, nous semble présenter un intérêt doctrinal.

Le fait que le sérum des sujets atteints de staphylococcies dévie le complément, surtout en présence de toxine, et beaucoup moins fréquemment en présence du microbe, cadre bien avec ce que l'on sait, à l'heure actuelle, sur le rôle toxique du germe. Il se passe pour la maladie staphylococcique des modifications sérologiques assez semblables à celles qui furent décrites dans des maladies à élément toxique éminent, telles que la diphtérie.

Si, d'autre part, une relation assez étroite existe entre le pouvoir antitoxique d'un sérum et son pouvoir fixateur vis-à-vis de la toxine, il ne faut pas oublier que dans quelques cas ce rapport n'existe plus. Il y a lieu dans une certaine mesure, de dissocier la production de l'antitoxine et de la sensibilisatrice spécifique, au moins dans certains cas de staphylococcies de long cours.

CHAPITRE IV

Intradermoréaction à la toxine staphylococcique

La question de la réaction du derme à la toxine staphylococcique n'est pas nouvelle et n'est pas encore, à l'heure actuelle, élucidée dans tous ses détails.

Voulant nous rendre compte de l'existence, de l'aspect, de la fréquence de la réaction produite par l'injection intradermique d'une petite dose de toxine, nous avons, dans une première série d'expériences, étudié le plus grand nombre possible de sujets de tous âges pris au hasard, soit normaux, soit atteints de staphylococcies diverses.

L'injection intradermique de 1/10 cc. d'une dilution à 1/10.000 de toxine 22 (dose test 0,11) permet de définir deux variétés de réactions.

1° La réaction négative : nous appelons ainsi celle qui n'est suivie d'aucun phénomène ou celle qui s'est révélée simplement par une zone érythémateuse, apparaissant au bout de quelques heures et ne présentant aucune induration, disparaissant, enfin, dès le lendemain.

2° La réaction positive, caractérisée par une papule rouge, qui commence à être perceptible 8 heures après l'injection, présente son intensité la plus forte au bout de 24 heures et est déjà atténuée à la 48e heure. Au troisième jour

cette papule est disparue, laissant une pigmentation et souvent une desquamation. La taille des papules oscille de 5 à 35 mm., la rougeur et l'induration sont variables. C'est en tenant compte des trois éléments : taille, rougeur, induration, qui en général marchent de pair, que l'on peut distinguer des réactions positives fortes, moyennes ou faibles.

Les résultats d'une première expérimentation sur 164 sujets de tout âge sont indiqués dans le tableau suivant.

Age	Nomb. de suj.	Réaction +	Réaction —
0 à 2 ans :	12	9	3
2 à 15 ans :	50	29	21
Adultes :	102	38	64

On peut se demander ce que signifie la réaction cutanée? Quand on injecte dans le derme d'un sujet le filtrat de culture, on introduit, en même temps que la partie inconnue qui supporte la qualité toxique de ce filtrat, d'autres particules protéiques contenues dans le bouillon et désintégrées au cours de l'élaboration de la toxine.

Nous avons essayé de reconnaître le rôle de chacune des parties du filtrat.

Le bouillon qui avait été ensemencé pour la production de toxine, injecté à un sujet en même temps que la toxine et aux mêmes doses, ne provoque pas de réaction cutanée ou bien une simple rougeur, parfois une papule, d'apparition très précoce et d'évolution très rapide. De toute façon, ces réactions sont nettement différentes des réactions dues au filtrat staphylococcique.

Les substances protéiques contenues dans le milieu producteur n'interviennent donc pas dans la réaction cutanée prise pour type.

Il nous a paru intéressant de rechercher si la réaction cutanée était variable suivant la durée d'incubation de la culture. Il est, en effet, possible que la qualité des protéines injectées entre en jeu.

En injectant des filtrats obtenus après un temps relativement court d'incubation (4 jours au lieu de 7) on obtient une diminution notable des réactions positives. Comparativement, pour des doses identiques de toxine ayant sensiblement le même pouvoir toxique (D. T. = 0,09), nous trouvons :

Avec les filtrats obtenus après incubation de *7 jours* } 58 % de réactions positives.

Avec les filtrats obtenus après incubation de *4 jours* } 25 % de réactions positives.

Le degré de désintégration des protéines du milieu de culture joue donc un rôle certain dans la réaction du derme à l'injection de ce filtrat. Le pourcentage de réactions positives à l'injection du filtrat est d'autant plus élevé que la durée d'incubation de la culture qui lui donne naissance est prolongée. Nous ajouterons, qu'à dose égale, la réaction est, dans l'ensemble, beaucoup plus intense avec le filtrat issu de culture à longue incubation.

Nous avons, enfin, essayé de distinguer la réaction due aux protides microbiennes, des réactions cutanées vis-à-vis

Intradermo réactions chez l'homme : T = taille en mm.s - R = Erythème - I = Induration.

Nom	$\frac{1}{10}$ c.c³ Toxine non chauffée.												$\frac{1}{10}$ c.c³. Toxine chauffée (100° - 30')															Titre du Sérum en UA p. c.c³
	dil. $\frac{1}{100.000}$			dil. $\frac{1}{10.000}$			dil. $\frac{1}{1.000}$			dil. $\frac{1}{100}$			dil. $\frac{1}{100.000}$			dil. $\frac{1}{10.000}$			dil. $\frac{1}{1000}$			dil. $\frac{1}{100}$			dil. $\frac{1}{10}$			
	T	R	I	T	R	I	T	R	I	T	R	I	T	R	I	T	R	I	T	R	I	T	R	I	T	R	I	
G..	0	0	0	20	+	+	32	++	++	43	++	+++	0	0	0	0	0	0	20	++	+	27.40	++	++	/	/	/	0,5
Le.	0	0	0	19.33	+	0	33	++	+	48.35	++	+++	0	0	0	13	+	0	20	+	0	27	++	+	/	/	/	0,5
Lo...	0	0	0	10	+	++	15	++	+	45	+++	+++	0	0	0	0	0	0	15	+	+	25	++	++	/	/	/	0,5
Ho....	0	0	0	15	++	+	18	++	++	40	++	+++	0	0	0	13	+	0	18	++	+	25	++	+	/	/	/	0,66
La ...	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	2	+	0	6	+	±	14	+	±	30	++	+	/	/	/	0,5
T. ..	/	/	/	10	0	0	23	+	+	40.26	+	++	/	/	/	10	0	0	13	±	0	20	+	0	/	/	/	< 0,2
B.....	/	/	/	10	0	0	10	+	+	28	+	++	/	/	/	10	0	0	10	0	0	10	+	+	/	/	/	0,6 - 1
D....	/	/	/	0	0	0	8	+	+	28	++	++	/	/	/	0	0	0	0	0	0	0	0	0	/	/	/	0,5-0,66
S ...	/	/	/	0	0	0	0	0	0	12	++	+	/	/	/	0	0	0	0	0	0	10	+	0	15	++	++	< 0,2
C.....	/	/	/	10	+	0	10	++	0	15.20	++	0	/	/	/	10	+	0	15	++	0	20.25	++	0	20	++	0	2,5 / 3 / 3
He..	/	/	/	10	+	±	0	+	0	12	+++	++	/	/	/	29.18	+	0	29.18	++	+	12	++	0	20	++	+	0,3-0,5
Ve...	/	/	/	0	0	0	10	+	±	20	+++	+++	/	/	/	0	0	0	10	++	+	20	++	++	35.25	+++	++	0,6 - 1
Vi....	/	/	/	0	0	0	10	+	0	10	++	+	/	/	/	0	0	0	10	+	0	10	+	±	15	++	+	0,3-0,5
Co....	/	/	/	10	+	+	15	+++	++	30.25	+++	+++	/	/	/	10	+	+	15.20	+++	++	30,25	+++	+++	/	/	/	1,43 / 1,66
Sp...	/	/	/	0	0	0	10	++	+++	25	++	+++	/	/	/	0	0	0	10	+	++	20	++	++	/	/	/	0, 3
Loi...	/	/	/	0	0	0	10	+	0	25	++	++	/	/	/	0	0	0	10	+	0	15.10	++	+	/	/	/	0,3-0,5
Be...	/	/	/	0	0	0	10	+++	++	30-15	+++	+++	/	/	/	0	0	0	10.15	+++	+++	20.10	+++	+++	/	/	/	0,5-0,66
Coa...	/	/	/	15	++	++	20	+++	+++	40.30	+++	+++	/	/	/	10	++	+	25.15	++	+	25	++	+	/	/	/	< 0,2
Go...	/	/	/	0	0	0	10	++	++	25.20	+++	+++	/	/	/	0	0	0	10	+++	++	10	+++	++	/	/	/	< 0,2
Or..	/	/	/	0	0	0	10	+	±	15.10	++	++	/	/	/	0	0	0	8	++	+	15	++	+	/	/	/	1,43 / 1,66

de la toxine, dans une série d'expériences résumées dans le tableau ci-contre et qui nous permettent d'adopter les conclusions suivantes :

Le chauffage du filtrat à 100° pendant 20 minutes (qui fait disparaître complètement les propriétés dermonécrotiques) ne modifie pas obligatoirement la réaction cutanée : en général, la réaction est très affaiblie et même supprimée par le chauffage ; parfois cependant, la réaction est à peine modifiée ; on peut même exceptionnellement observer des réactions cutanées plus importantes quand la toxine a été chauffée.

Aussi gardons-nous l'impression très nette que les réactions du derme au filtrat staphylococcique représentent essentiellement des réactions d'allergie, ou tout au moins que la réaction du derme à la toxine est masquée par des réactions allergiques.

Essayant de reconnaître le rôle même de la toxine, nous avons dans quelques cas introduit dans le derme des doses importantes (1/100, 1/10 cc. de filtrat), mais les violentes réactions observées (énorme réaction locale, fièvre) nous interdisent de poursuivre l'expérimentation.

Peut-être que des procédés d'épuration de la toxine permettront de manier à plus forte dose les filtrats et de résoudre le problème.

Nous avons, d'autre part, recherché si un rapport pouvait être établi entre le mode de réaction de la peau et la teneur du sérum en antitoxine spécifique.

Dans ce but, nous avons déterminé le pouvoir neutralisant de 43 sérums, en utilisant comme méthode d'appréciation la méthode hémolytique.

Les résultats obtenus se répartissent de la façon suivante :

Réaction observée	Sérums titrant					
	< 0,2	0,2-0,5	0,5-0,7	0,7-1	1 - 2	>2-<3,3
+++				I	I	
++	I		II	I	IIIII	
+	I	I	IIII	I	I	
0	IIIII	IIIIIIII	IIII	III	II	I

Il nous paraît donc que, dans l'ensemble, les réactions intradermiques sont positives chez les sujets dont le sérum contient une quantité assez forte d'antitoxine ; elles sont très souvent négatives chez les sujets dont le titre du sérum en antitoxine est faible.

Ce n'est là qu'une orientation dans le sens des réactions. Il y a parfois des exceptions. Des sujets à titre antitoxique assez élevé (1,5 unité) peuvent rester indifférents à l'injection intradermique du filtrat, alors que des sujets pratiquement indemnes de toute immunité antitoxique réagissent fortement.

*
* *

Il semble donc que l'intradermoréaction au filtrat staphylococcique ait une signification assez complexe. Elle doit être considérée, très souvent, dans les conditions de lecture adoptées, comme une *réaction d'allergie* vis-à-vis des protides microbiennes. Comme les réactions allergiques, elle est d'ailleurs caractérisée par sa vitesse d'apparition et la promptitude de sa disparition.

Le fait qu'une réaction intradermique positive coïncide, assez souvent, avec une certaine teneur en antitoxine de sérum signifie bien que le sujet a subi les atteintes du staphylocoque. Les exceptions à cette règle s'expliquent, peut-être, par le fait que tous les sujets soumis à l'agression staphylococcique, ne réagissent pas également aux diverses substances élaborées par ce germe dans l'organisme.

*
* *

On ne saurait douter du rôle de la toxine dans la maladie staphylococcique. Ce rôle, nous avons essayé de le préciser au cours des études précédentes.

Elaborée *in vivo* dans l'organisme par le staphylocoque au cours de l'infection apparente ou inapparente, produisant des dégâts dont nous avons montré l'importance, la toxine provoque, de plus, l'apparition dans l'organisme de l'anticorps spécifique, d'une antitoxine neutralisant, à des degrés variables, l'exotoxine obtenue à partir des souches les plus diverses.

L'immunité antitoxique, artificiellement produite par l'injection d'anatoxine, marche souvent de pair avec la guérison de la maladie. Assez développée, elle arrive à prévenir chez l'animal les effets d'une injection microbienne mortelle.

M. G. Ramon et ses collaborateurs ont, récemment, insisté sur le rôle essentiel, unique, de l'immunité antitoxique dans les maladies staphylococciques. L'antitoxine transportée par le courant circulatoire au niveau du foyer staphylococcique, y neutraliserait la toxine au fur et à mesure de son élaboration, protégerait les tissus contre l'action du poison staphylococcique, libèrerait les agents de la lutte phagocytaire. L'immunité anti-staphylococcique se rapprocherait donc, par plus d'un point, du mécanisme de l'immunité

anti-diphtérique. Elle donne à l'action toxique du staphylocoque le rôle majeur et confère à l'antitoxine un rôle indirect, mais capital, dans la lutte anti-microbienne.

Cette conception s'appuie sur des faits expérimentaux solides et l'observation lui donne raison dans la plupart des cas.

Cependant, il existe entre la staphylococcie et la diphtérie de telles différences évolutives qu'il est difficile d'admettre entre les deux maladies une assimilation totale.

La diphtérie évolue toujours comme une maladie aiguë. La staphylococcie, tout au contraire, est protéiforme. Tel sujet attaqué par un staphylocoque banal, réagit localement par un placard érysipélatoïde. Avec une rapidité déconcertante tout l'organisme est envahi ; et on retrouve le microbe en quantité considérable dans tous les tissus de l'économie. Tel autre sujet, au contraire, est porteur pendant des années de furoncles, de staphylococcies qui restent superficielles, disparaissent un jour sans avoir jamais déterminé de métastases microbiennes.

On peut se demander si les qualités du germe interviennent pour expliquer la gravité, si l'immunité humorale se modifie quand survient la guérison spontanée du malade.

Or, les caractères pathologiques du germe ne semblent pas en cause : on ne trouve pas, dans les cas de staphylococcies à évoltion bénigne, de germe particulièrement « fragile », pas plus qu'on ne trouve, dans les cas graves, de germe particulièrement agressif à propriété virulente et toxique extraordinaire.

Les germes des staphylococcies les plus sévères se sont, parfois, montrés les moins virulents pour l'animal de laboratoires ; les germes « éminents » n'ont pas été prélevés sur des organismes particulièrement touchés par la maladie.

Y a-t-il une différence, au point de vue humoral, entre

le sujet normal, le sujet en cours de maladie staphylococcique, le sujet guéri.

Les dosages d'antitoxine pratiqués chez les sujets qui ont souffert dans un passé récent ou ancien, de staphylococcies, qui ont eu à compter avec des infections, même graves, et en ont parfaitement triomphé, nous montrent que le titre antitoxique est à peine supérieur à celui des sujets normaux.

Quand on compare les titrages successifs de l'antitoxine du sérum des patients au cours de l'évolution spontanée de la staphylococcie, on ne voit pas, non plus, de modification importante de l'immunité humorale, parallèlement à la guérison.

L'ensemble des recherches expérimentales et des résultats thérapeutiques donne, cependant, à penser le rôle important de la toxine.

C'est dans ce sens que plaident les résultats de la déviation du complément. Elle se fait beaucoup plus complètement vis-à-vis de l'antigène toxique que de l'antigène microbien.

Il est indéniable que la guérison clinique après la thérapeutique spécifique coïncide avec l'acquisition d'une riche immunité humorale.

Qu'on nous permette d'insister, cependant, sur les cas, peu nombreux, qui s'écartent de ces constatations générales : ceux où la guérison s'est installée sans apparition du pouvoir antitoxique du sérum ; ceux dans lesquels une haute teneur en antitoxine n'influence en rien la marche continue de la maladie.

Ces réserves ne suffisent pas à ébranler la conception aujourd'hui admise, de l'immunité dans les maladies staphylococciques. Mais elles donnent à penser que des facteurs non déterminés jouent, à côté de l'immunité humorale, un rôle dans la maladie et dans sa guérison.

TROISIÈME PARTIE

Essais de thérapeutique par l'Anatoxine et le Sérum dans les maladies staphylococciques

Etude clinique et expérimentale

CHAPITRE PREMIER

Essais d'immunisation staphylococcique active chez l'animal Valeur de cette immunisation dans l'infection microbienne expérimentale

Les essais d'immunisation antitoxique par la toxine ou ses dérivés remontent aux premiers travaux sur la leucocidine et l'hémolysine. En 1895, déjà, DENYS et VANDEVELDE avaient noté que l'injection de toxine à dose croissante, mettait les lapins en état de résistance à l'infection expérimentale.

En 1929, BURNET, le premier, a immunisé des lapins au moyen de la toxine formolée.

En 1932, O. GENGOU, comparant le pouvoir immunisant de différents antigènes staphylococciques observe les meilleurs résultats avec l'anatoxine. Il ne peut, cependant, par cette vaccination protéger l'animal contre une injection microbienne.

A l'heure actuelle, des essais ont été repris sur une base nouvelle depuis que nous sommes en possession de bonnes anatoxines. On a cherché à préciser les principes généraux d'une bonne immunisation active. Les résultats sont sensiblement plus encourageants que ceux des auteurs précédents.

I. — PRINCIPES GÉNÉRAUX D'UNE BONNE IMMUNISATION.

Un grand nombre de facteurs sont en jeu : l'espèce animale, la qualité de l'antigène, son mode d'administration.

On a soumis à la vaccination diverses espèces animales (cobaye, rat). Le lapin est, à l'heure actuelle, le plus sensible à la toxine. C'est à lui que nous nous sommes adressé dans l'étude expérimentale.

Les anatoxines utilisées titraient 12 unités antigènes. Divers modes d'administration furent essayés : la voie intradermique, sous-cutanée, intraveineuse. L'anatoxine a été injectée en quantité variable, à intervalles variables ; le plan général des essais est résumé dans le tableau suivant.

Le titre antitoxique du sérum, défini avant la vaccination, a été contrôlé à diverses reprises après vaccination.

Nous avons, en même temps, soumis au contrôle sérologique quelques lapins témoins, compagnons d'élevage des lapins vaccinés (précaution nécessaire pour surprendre et apprécier une immunisation latente spontanée).

La voie intra-veineuse ne paraît avoir aucun avantage ; comme l'avait déjà vu J. Parker, elle est contre indiquée pour la vaccination.

Par contre, l'injection d'anatoxine par voie sous-cutanée et intradermique provoque de façon constante, mais à un degré variable, l'apparition dans le sérum de substances antitoxiques. L'élévation du titre antitoxique du sérum est bien le fait de la vaccination et ne relève pas d'une immunisation antitoxique naturellement acquise par les animaux durant les quelques semaines de surveillance.

Il nous semble que la vaccination par voie sous-cutanée donne une immunité plus importante que la vaccination par voie intradermique.

Voie d'introduction	Titre du sérum avant vaccination	Quantités d'Anatoxine reçues (en c.m^3)						Titre du sérum après vaccination
		1er Jour	3ème	4ème	5ème	10ème	16ème	
Intra-dermique	< 0,04	0,25	0,50			1	1	1,6
	< 0,04	0,25	0,50			1	1	< 0,5
	< 0,04	0,25	0,50			1	1	< 0,5
	1,25	1	1			2		12,5
	< 0,25	1,5	1			2		< 0,5
Sous cutanée	< 0,04	0,25	0,50			1	1	4,2
	0,04	0,25	0,50			1	1	1,6
	0,04	0,25	0,50			1	1	2,5
	< 0,5	1,5		1,5		2		12,5
	2	1		1				18
	< 0,5	1			1			2,5
	< 0,5	1			1			7,5
Intra veineuse	< 0,5	1			1			< 0,5
Témoins	2							2
	0,04							0,2
	0,04							0,1
	< 0,04							< 0,04

La quantité d'anatoxine injectée intervient en partie dans la valeur du titre antitoxique terminal.

Mais il faut ajouter un autre fait qui nous paraît intéressant. Tous les animaux ne semblent pas réagir également à l'injection de l'antigène. Les meilleurs producteurs d'antitoxines semblent ceux qui, au départ, possèdent déjà une certaine immunité naturelle. Fait à rapprocher de cette notion, bien connue, que les chevaux à réaction de SHICK négative sont les meilleurs producteurs de sérum. Un fondement d'immunité favorise l'acquisition d'une immunité active.

Par contre, quelques animaux ne réagissent guère à la vaccination et malgré des sollicitations répétées il est impossible de provoquer chez eux la moindre élévation du titre antitoxique.

En voici quelques exemples :

Le lapin C 3 ayant atteint le taux de 2,25 U. A. T. par cm^3 après injection de 4 cc. anatoxine en doses croissantes réparties sur 25 jours, garde invariablement ce titre antitoxique, malgré 4 injections successives et espacées de 2 cc. d'anatoxine.

Un autre animal (lapin C 6), après avoir atteint le taux de 2,5 U. A. T., garde 2 mois après le même titre malgré l'injection supplémentaire de 6 cc. d'anatoxine.

Un troisième animal (lapin C 14) ne montre aucune modification de l'antitoxine humorale, malgré l'injection, en l'espace de 10 jours de 4,5 cc. anatoxine et de 3,5 cc. dans les 20 jours suivants. Près de 5 mois après la primo-injection d'antigène le titre antitoxique est inchangé.

Fait intéressant, cette résistance de l'organisme à l'acquisition d'une immunité active n'empêche pas de faire apparaître dans le sérum des réactions de fixation positives, non seulement vis-à-vis de l'antigène toxique mais surtout de l'antigène microbien.

Ces remarques ne sont pas sans analogie avec quelques constatations faites au cours de l'immunisation active de l'homme par l'anatoxine.

Ces essais sont, dans l'ensemble, d'accord avec ceux des autres expérimentateurs.

Ils permettent donc d'avancer : que l'immunisation active du lapin est possible, qu'il y a intérêt à répartir les injections sur un certain temps et à user de l'anatoxine à doses moyennes (1 à 2 cc.), que la voie sous-cutanée apparaît la plus productive.

Une bonne immunisation s'obtient, en particulier, chez les animaux possédant déjà un certain degré d'immunité antitoxique. Par contre, certains animaux réagissent mal ou ne réagissent pas à l'injection d'anatoxine.

II. — IMMUNITÉ CONFÉRÉE A L'ANATOXINE ET INFECTION PAR LE STAPHYLOCOQUE VIRULENT.

M. G. Ramon et ses collaborateurs ont montré expérimentalement la supériorité très nette de l'antigène toxique sur l'antigène microbien.

L'immunisation provoquée par l'anatoxine permet la survie de l'animal injecté de staphylocoques à doses mortelles. Aucune différence fondamentale ne sépare, au contraire, les témoins des animaux soumis à la vaccination microbienne.

L'animal correctement vacciné par l'anatoxine guérit d'une infection cutanée expérimentale par le staphylocoque, alors que l'animal neuf présente les lésions destructives et traînantes habituelles.

En vue de vérifier la valeur de l'immunisation active contre l'infection microbienne, nous avions, de notre côté, entrepris la vaccination d'une quinzaine d'animaux. Tous

n'ont pu être utilisés, certains n'ayant pas acquis d'immunité importante, d'autres étant morts au cours de la vaccination.

C'est un fait qui nous a, en effet, frappé que la fragilité des vaccinés. A cinq reprises nous avons perdu des animaux au lendemain de 3e, 4e, 5e injection d'anatoxine, sans qu'on retrouve à l'autopsie aucune autre anomalie qu'une vaso-dilatation généralisée.

Il n'est pas douteux que l'introduction répétée d'antigène éprouve l'animal d'expérience. La plupart des lapins vaccinés maigrissent d'ailleurs de façon appréciable.

Au cours de l'immunisation active, sous l'influence des *doses importantes* d'anatoxine (ce sont à peu près les mêmes que celles employées chez l'homme), l'organisme animal semble souffrir.

Ces accidents ont diminué le champ de notre expérience personnelle. Nous rapporterons, cependant, les cas suivants qui nous paraissent tout à fait démonstratifs.

1°) *Survie appréciable de l'animal vacciné.*

Le *lapin* 63, 2 kg. 400, reçoit le 10 mars, 6/10 cc. culture de la souche Wood, par voie intraveineuse.

Mort le 12 mars. A l'autopsie : congestions viscérales multiples, épanchement des séreuses (staphylocoques).

Le *lapin* 13 (qui a été préalablement vacciné par l'anatoxine et dont le sérum titre 12,5 U. A. T. au cc.), 3 kg. 010, reçoit, en même temps, 0,75 cc. culture identique par voie intraveineuse.

Il meurt le 21 mars, soit *onze jours* après l'injection, présentant des abcès rénaux.

Cet exemple nous montre la survie appréciable d'un lapin vacciné (11 jours) alors que le témoin est mort en 48 heures.

2°) *Protection définitive de l'animal vacciné.*

Le *lapin* 62, 1 kg. 760, reçoit le 10 mars, 1/2 cc. culture Wood. Il meurt le 11 mars. 17 heures après l'inoculation.

L'autopsie démontre le staphylocoque en abondance dans les épanchements séreux.

Le *lapin* 17, 1 kg. 870, préalablement vacciné à l'anatoxine et dont le sérum titre 12,5 U. A. T., reçoit dans la même séance la même quantité de la même culture.

Il est encore vivant 7 *mois* après l'inoculation.

Qu'une protection *antimicrobienne* puisse être conférée à l'animal par une immunisation antitoxique solide est donc un fait parfaitement établi.

Les auteurs qui s'intéressaient à la question, il y a encore peu d'années, n'avaient pu protéger complètement l'animal immunisé contre une injection virulente microbienne et avaient dû se contenter de noter la survie appréciable du vacciné. Cela tient, croyons-nous, à ce qu'ils n'avaient pu donner aux animaux d'expérience une immunité antitoxique assez solide par suite de la faible valeur antigénique des anatoxines employées. Il n'en est plus de même aujourd'hui, grâce aux progrès techniques réalisés dans la préparation des toxines.

CHAPITRE II

L'action du sérum antistaphylococcique dans l'infection expérimentale du lapin

Les propriétés antitoxiques du sérum des animaux immunisés soit par la toxine, soit par l'anatoxine, sont surabondamment démontrées.

In vitro, nous savons que l'antitoxine neutralise rapidement et proportionnellement la toxine. Nous avons eu à plusieurs reprises l'occasion de signaler qu'un mélange suffisamment neutralisé a perdu toute propriété hémolytique, nécrotique ou léthale.

In vivo, l'activité du sérum antitoxique peut se manifester de diverses façons.

Nous avons déjà vu précédemment qu'un animal possédant une certaine immunité naturelle peut rester indifférent à l'introduction de la toxine dans le derme, ou ne réagir que faiblement à une dose de toxine qui produit chez un congénère non immunisé une nécrose appréciable.

On a prouvé à diverses reprises l'action antitoxique générale du sérum vis-à-vis de la toxine introduite par voie veineuse, rachidienne ou cérébrale.

Le sérum possède, d'une façon certaine, une action antitoxique, autant *in vitro* qu'*in vivo*.

Là ne s'arrête peut-être pas son activité. Si la propriété antitoxique est sa qualité essentielle, on peut se demander

s'il ne possède pas également de propriétés anti-microbiennes.

Il ne faut pas envisager une destruction directe du microbe par le sérum. Jamais cette action directe n'a été démontrée. Mais il est possible que l'antitoxine apportée à l'organisme par la sérothérapie modifie les conditions locales de culture du staphylocoque dans les tissus, en neutralisant la toxine au fur et à mesure de sa production.

Une telle hypothèse qui donne au sérum antitoxique un pouvoir *indirectement antimicrobien* a été avancée et vérifiée dans la diphtérie.

Nous nous sommes demandé si elle était valable pour le staphylocoque et sa toxine et avons étudié l'action de la sérothérapie *antitoxique* sur l'infection microbienne expérimentale.

Plusieurs auteurs se sont déjà intéressés à cette question :

De ses recherches, F.-M. Burnet conclue que les animaux en état d'immunité antitoxique marquent, quand ils sont infectés de staphylocoque par voie veineuse, une survie de quelques heures mais ne résistent pas à l'infection.

M. P. Nélis est arrivé également par l'immunisation passive à obtenir une résistance certaine vis-à-vis d'une infection sévère réalisée par voie sanguine.

Travassos et Combiesco sont arrivés à obtenir des survies.

Une fois en possession d'un sérum de haute valeur antitoxique, nous avons recherché si la sérothérapie peut préserver l'animal contre les effets d'une injection microbienne à dose mortelle ; dans quelles conditions la protection est réalisée ; si la sérothérapie modifie les lésions anatomiques provoquées dans l'organisme par le staphylocoque.

Nous avons utilisé dans nos expériences le sérum antistaphylococcique obtenu chez le cheval après l'injection d'anatoxine, puis de toxine staphylococcique additionnée de ta-

pioca. Ce sérum antitoxique est préparé à l'Institut Pasteur de Garches par les soins de MM. G. Ramon et Richou. Les échantillons utilisés titraient 250 unités antitoxiques par cc. (unité déterminée d'après les conventions internationales).

Après avoir essayé de nombreuses souches de staphylocoques, nous avons choisi comme matériel virulent la souche dite « Wood », souche de staphylocoque blanc, isolée par Burnet (de Melbourne) d'un malade présentant des brûlures très étendues.

Une étude préalable nous a renseigné sur la virulence de cet échantillon. Le staphylocoque Wood est ensemencé sur gelose ordinaire inclinée, la culture de 24 heures est émulsionnée dans 10 cc. d'eau physiologique et l'émulsion est inoculée, à dose convenable à un lapin par voie intraveineuse.

Après tâtonnement, nous sommes arrivé à obtenir une échelle de virulence : soit en injectant des doses variées, soit en utilisant des repiquages de souches vieillies, soit, au contraire, en utilisant des souches isolées récemment, après passages successifs sur le lapin. La mort des animaux s'est produite dans les délais compris entre 2 et 16 jours.

I. — INFLUENCE DE L'INJECTION DE SÉRUM SUR LA SURVIE DES ANIMAUX

Dans une première série d'expériences des lapins de même poids ont reçu d'abord le sérum antistaphylococcique (20 cc.) puis l'injection virulente. L'injection de sérum a été faite 24 heures avant l'inoculation virulente.

Les animaux ne sont pas protégés. Aucun ne résiste à l'injection virulente.

Ils meurent, mais dans des délais relativement plus longs que les animaux témoins. La moyenne de survie, pour les

Tableau I : Influence de l'injection de sérum 24 heures avant l'injection virulente.

Lapins immunisés				Lapins témoins.			
N°s	Poids	Vol. de la souche injecté	Mort.	N°s	Poids	Vol. de la souche injecté	Mort.
C39	1550	0,5	90 Jours	C31	1300	0,5	3 Jours
C48	1670	0,5	14 „	C50	1650	0,5	2 „
C49	1870	0,5	7 „	C53	1850	0,5	2 „
C52	1830	0,5	3 „	C54	2030	0,5	3 „
A4	1720	0,25	27 „	A5	1620	0,25	5 „

Tableau II : Influence de l'injection simultanée de sérum et de Staphylocoques.

Lapins immunisés.				Lapins témoins.			
N°s	Poids	Vol. de la souche injecté	Sort des animaux	N°s	Poids	Vol. de la souche injecté	Sort des animaux.
C55	1850	0,5	Mort en 21 jours	C56	1950	0,5	Mort en 12 jours
C58	1620	0,5	Vivant 100 j. après. Sacrifié	C59	1770	0,5	Mort en 16 jours
C57	2050	0,5	Mort en 7 jours.	C60	2030	0,5	Mort en 2 jours
A7	2160	0,25	Vivant après 5 mois.	A9	2050	0,25	Mort en 3 jours
A8	1670	0,25	Vivant 60 j. après. Sacrifié.	A10	1580	0,25	Mort en 2 jours
A11	1760	0,25	Vivant après 4 mois.	A12	1620	0,25	Mort en 2 jours.

animaux ayant reçu le sérum est de 28 jours. Elle est de 3 jours seulement pour les témoins.

Dans une deuxième série d'expériences, nous avons pratiqué simultanément l'injection de sérum et de staphylocoque. Il ressort que les animaux ayant subi simultanément sérum et injection virulente sont nettement protégés.

La plupart d'entre eux sont encore vivants après plusieurs mois alors que les témoins sont morts dans les délais habituels.

Les lapins qui sont encore vivants ont présenté au début de leur infection un amaigrissement marqué mais cependant moins important que celui des témoins qui devaient succomber. Trois semaines après, environ, ils reprennent leur poids puis le dépasse.

De ces expériences on peut donc conclure que le sérum antistaphylococcique, injecté au lapin, le protège dans une certaine mesure contre l'injection staphylococcique d'épreuve. Cette protection est d'autant plus marquée que l'injection protectrice est plus rapprochée de l'injection virulente. Seuls survivent, en effet, les animaux qui ont reçu en même temps le sérum et le microbe infectant. Le sérum injecté 24 heures avant le germe virulent ne protège qu'imparfaitement les animaux.

Nous avions d'ailleurs remarqué, dans des expériences antérieures, que l'injection de sérum précédant de 48 heures l'infection expérimentale se montrait totalement inopérante. D'ailleurs, dans ces derniers cas, le dosage de l'antitoxine chez le lapin nous montre que le sang circulant ne contient plus, après 48 heures, qu'une très minime partie de l'antitoxine injectée.

II. — MODIFICATIONS APPORTÉES PAR LA SÉROTHÉRAPIE AUX LÉSIONS ANATOMIQUES PROVOQUÉES PAR L'INJECTION DE STAPHYLOCOQUES (1)

Une étude anatomopathologique préalable nous a permis de préciser les lésions les plus fréquentes et les plus caractéristiques de la septicémie staphylococcique expérimentale.

Ce sont les infarctus et abcès du rein, en premier lieu ; les abcès du cœur et plus rarement du foie, enfin, assez exceptionnellement, des lésions pleuropulmonaires.

Suivant que l'injection virulente amène la mort dans les délais courts ou relativement prolongés, les lésions sont évidemment variables, dans leur étendue, dans le développement des phénomènes suppuratifs.

Elles se résument à deux types principaux, l'infarctus, l'abcès. Ces lésions ont été retrouvées chez nos animaux témoins non immunisés, morts 2 à 16 jours après l'inoculation virulente.

Voici, par exemple, l'aspect des abcès du myocarde (lapin C 60) :

Nombreux foyers abcédés, riches en leucocytes poly et mononucléaires pulvérulents. Ces foyers leucocytaires *dissocient, détruisent les fibres musculaires* qui disparaissent progressivement. Aucune réaction périphérique n'est esquissée.

Voici encore les lésions typiques d'un des infarctus rénaux du lapin C 54 (Fig. 1).

Le rein présente des zones d'infarcissement dispersées souvent en coin, bien caractérisées par un début de *mortification des tubes rénaux* dont les épithéliums apparaissent plus clairs, ont

1) Que Monsieur E. Normand accepte ici nos remerciements pour l'aide efficace qu'il a apportée dans l'élaboration de ce chapitre.

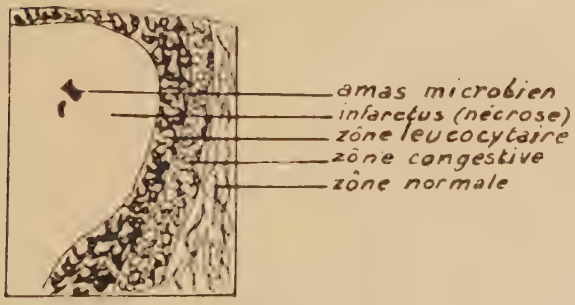

amas microbien
infarctus (nécrose)
zône leucocytaire
zône congestive
zône normale

Fig. 1.

perdu l'affinité tinctoriale normale. Les vaisseaux périphériques de cette zone, surtout dans la région des tubes droits, sont extrêmement hyperémiés, apoplectiques.

Une diapédèse importante de leucocytes pulvérulents se dispose autour de cet infarctus.

Quelques colonies de microbes apparaissent dans ces tissus. Elles sont logées dans les vaisseaux, les glomérules et les tissus interstitiels.

Les lésions anatomiques provoquées par la septicémie staphylococcique expérimentale chez les animaux non immunisés apparaissent constantes, importantes, essentiellement caractérisées par l'existence, autour de foyers microbiens, de larges plages de nécrose cellulaire. La réaction d'appel leucocytaire est variable.

L'étude des lésions anatomiques chez l'animal immunisé, montre des différences nettes :

A) Chez les animaux qui ont reçu l'injection préventive de sérum 24 heures avant le staphylocoque virulent.

Un animal (A 4) résiste 27 jours. On ne trouve aucune lésion rénale évidente, et simplement une vessie énorme avec pus et sang.

Un autre meurt 90 jours après l'injection microbienne. Aucune lésion rénale ou cardiaque habituelle n'est retrouvée, mais des lésions pulmonaires tout à fait atypiques (Fig. 2).

Les deux poumons ne sont plus qu'une masse informe constituée par une agglomération d'abcès enveloppée d'une épaisse gangue blanchâtre, lardacée. Cette gangue adhère à la paroi costale, au diaphragme, au péricarde. Il est très difficile d'en séparer le cœur. Le cœur est basculé par suite du développement vers le médiastin inférieur de l'abcès pulmonaire droit et se présente à l'ouverture du thorax, *la pointe en haut.*

A la coupe du poumon droit, il ne reste plus de parenchyme

D Godot de Mauroy

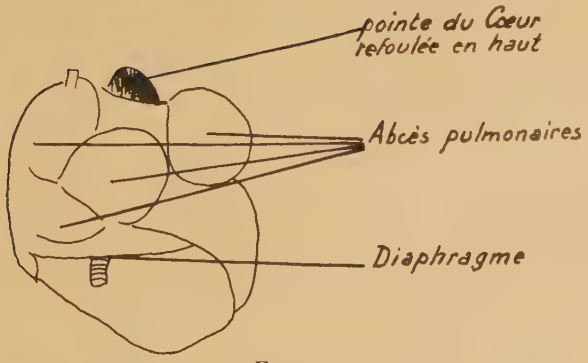

pointe du Cœur
refoulée en haut
Abcès pulmonaires
Diaphragme

Fig. 2.

reconnaissable qu'une petite masse grosse comme une noisette. Le reste est constitué par deux énormes abcès à contenu caséeux, dur et blanchâtre, qui s'énuclée avec facilité. A la coupe du poumon gauche apparaît un volumineux abcès de la taille d'une amande et présentant les mêmes caractères que les précédents.

L'aspect de ces lésions est si particulier que nous avons hésité à en admettre l'étiologie staphylococcique avant d'avoir le contrôle de l'examen bactériologique et histologique.

En réalité, une coupe de ces abcès montre clairement qu'ils sont constitués d'une matière caséogène riche en amas microbiens, entourée d'une couche fibroïde d'*enkystement* (Fig. 3).

Cette tendance à l'enkystement des lésions provoquées par le staphylocoque, qui témoigne d'une mise en jeu des appareils de défense normaux de l'organisme, nous paraît devoir être mise en valeur.

Un autre aspect des lésions mérite d'être précisé.

Nous savons que, normalement, tout autour des abcès et des amas microbiens les cellules des parenchymes qui hébergent le staphylocoque sont en voie de lyse. Ainsi l'épithélium rénal s'altère autour des amas microbiens, apparaît plus clair et perd son affinité tinctoriale.

Il nous a paru que les lésions provoquées chez nos animaux immunisés relevaient parfois d'un processus différent et que la lyse cellulaire était beaucoup moins nette à la périphérie des foyers microbiens.

Par exemple voici ce que nous révèle l'examen histologique des reins du lapin C 48 mort en 14 jours (Fig. 4).

De nombreux abcès sont répartis un peu au hasard, mais cependant plus nombreux dans la région des tubes droits. Certains ont l'air d'aborder le bassinet. On n'en trouve pas au-dessous de la couche corticale.

matière caséogène
avec amas microbien.
paroi de l'Abcès
couche fibroïde
d'enkystement

Fig. 3.

Ces abcès de différentes tailles sont formés par un mélange de leucocytes poly- et, surtout, mono-nucléés, ayant subi un certain degré de mortification. La substance rénale détruite ne présente aucune zone réactionnelle. *L'amas puriforme se trouve en contact direct du tissu rénal normal.*

La recherche des microbes dans cette matière montre un certain nombre de staphylocoques. A la périphérie de cette matière, dans le tissu rénal non mortifié, on retrouve ces mêmes microbes en assez grand nombre dans les petits tubes rénaux où ils semblent infiltrer l'épithélium et même dans certaines veinules.

En dehors de ces abcès, le rein est légèrement congestionné : les glomérules sont un peu irrités, trop riches en noyaux.

La plus grande partie des tubes contournés *montre les épithéliums qui les tapissent intacts.* Dans un certain nombre d'entre eux, cependant, ces épithéliums prennent un aspect plus clair.

Dans certaines régions disposées à la façon d'un infarctus, les tubes contournés apparaissent très dilatés, le plus souvent remplis d'une matière amorphe coagulée par les réactifs. Les épithéliums qui les tapissent sont cubiques, bas, parfois endothélioïdes. Le tissu interstitiel qui sépare ces tubes est un peu tassé, infiltré par un certain nombre de leucocytes mononucléés. Cette sorte de coin arrive jusque dans la région des tubes droits dont quelques-uns sont également dilatés.

Autour de ces lésions on ne trouve pas de suffusions sanguines ni de leucocytes périphériques.

L'impression très nette est d'une rétention par abcès des tubes droits obstrués, de dilatation mécanique causée par les abcès situés dans la région des tubes droits.

Sur la figure, que nous reproduisons ci-contre, apparaît nettement le caractère de précision, de netteté, d'isolement des foyers puriformes répartis dans une substance rénale normale, mises à part quelques déformations tubulaires d'origine mécanique. L'aspect est très différent de celui de l'infarctus où l'îlot microbien est le centre d'une zone de nécrose cellulaire énorme.

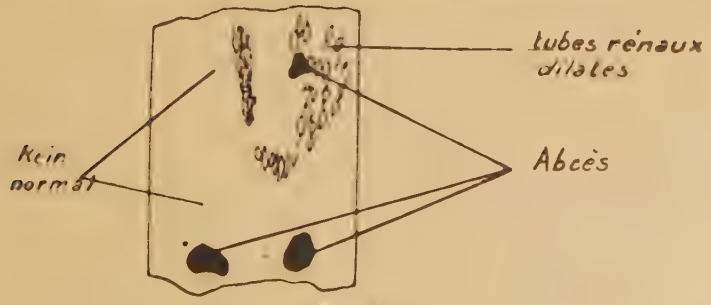


FIG. 1.

Cette disposition donne à penser que la lyse cellulaire autour des embolies microbiennes est beaucoup moins importantes chez les animaux soumis à la sérothérapie.

B) Des animaux qui ont reçu simultanément l'injection de sérum et le staphylocoque virulent, plusieurs sont restés vivants. Quelques-uns sacrifiés au 60e jour, au 100e jour, suivant l'inoculation, *n'ont présenté aucune lésion ni évolutive, ni cicatricielle apparente. D'autres que nous avons observés depuis plusieurs mois sont en excellent état de santé.*

Deux des animaux soumis simultanément à la sérothérapie et à l'injection microbienne sont morts.

L'un a succombé en 21 jours, cachectique ayant maigri de 500 gr. On ne trouve à l'autopsie aucune lésion viscérale,, le frottis du rein, la ponction de la vessie, permettent de retrouver le staphylocoque blanc. L'étalement de la moelle osseuse fourmille de staphylocoques à morphologie typique, avec de nombreuses images de phagocytose.

L'autre animal (C 57) a survécu 7 jours. Il n'a été trouvé à l'autopsie, aucune des lésions habituelles de la staphylococcémie, mais, disséminées dans les muscles et, en particulier, les psoas, des petites tuméfactions fusiformes contenant le staphylocoque. L'examen histologique d'une de ces zones d'altération musculaire montre qu'en réalité, nous étions en présence de plages limitées de nécrose (Fig. 5).

Le muscle psoas apparaît sur les coupes, frappé de place en place de mortifications nécrobiotiques avec une réaction leucocytaire très minime. Les fibres musculaires mortifiées ont perdu leur affinité tinctoriale ; leurs noyaux et ceux du sarcolemme sont déformés, pulvérulents. Les fibrilles contractiles se dissocient. Aucune réaction ou esquisse d'organisation conjonctive n'existe autour de ces foyers et l'on peut voir quelques fibres

100 µ
ABESSIN

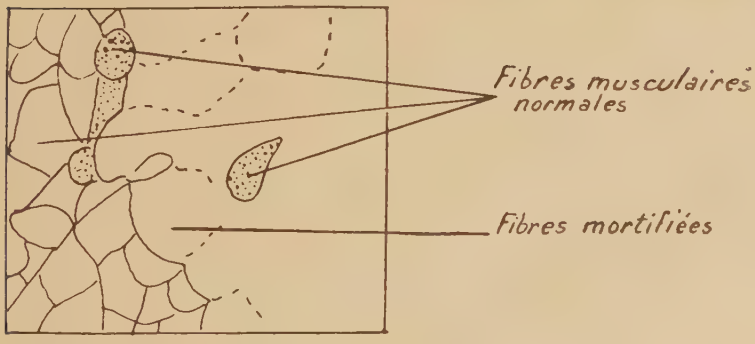

Fibres musculaires
normales
Fibres mortifiées

Fig. 5.

mortifiées isolées au milieu des fibres saines. Ces fibres mortifiées sont augmentées de volume.

*
* *

Nous conclurons donc que la sérothérapie antitoxique apparaît efficace mais dans des conditions particulières.

Elle ne modifie pas les effets d'une injection microbienne quand elle précède de 48 heures l'introduction de germes staphylococciques dans l'organisme.

Par contre, l'injection de sérum 24 heures avant l'injection microbienne retarde très notablement la mort de l'animal mais ne l'empêche pas.

Pour obtenir une protection complète du lapin contre une injection microbienne mortelle pour le témoin, il faut que la sérothérapie précède immédiatement l'injection du matériel virulent.

Cette notion de précocité de la sérothérapie est à retenir. Elle peut avoir un certain intérêt pratique en thérapeutique humaine. Nous nous plaçons, expérimentalement, dans des conditions autrement plus sévères que celles de la clinique humaine. L'infection naturelle de l'homme est certainement quantitativement beaucoup moins grave que celle réalisée dans nos expériences.

Nous ajouterons que l'usage de la sérothérapie modifie considérablement le nombre et l'aspect des lésions anatomiques.

Alors que les lésions des animaux témoins sont multiples, essentiellement représentées par des abcès ou des infarctus avec grosse nécrose cellulaire autour des amas microbiens, on observe, chez les animaux soumis à la sérothérapie, des lésions moins nombreuses, plus discrètes. La nécrose cellulaire est moins intense autour des foyers microbiens. Il peut même, dans les formes d'évolution ralentie se pro-

duire une réaction périlésionnelle d'enkystement tout à fait particulière. Ces modifications donnent à penser que la sérothérapie agit à la fois en modifiant les réactions locales autour des foyers microbiens (neutralisation de la toxine élaborée in vivo) et en permettant à l'organisme de mettre en jeu les réactions habituelles de défense (phagocytose, enkystement).

CHAPITRE III

Essais de thérapeutique spécifique dans la maladie staphylococcique humaine

La thérapeutique spécifique des staphylococcies par l'anatoxine a donné lieu à de nombreuses publications.

En nous tenant aux principaux rapports des auteurs de langue française, nous trouvons, sur ce sujet, depuis 1934, les essais de MM. P. Nélis, G. Ramon et leurs collaborateurs, les observations détaillées publiées à la Société Médicale des Hôpitaux par MM. R. Debré, Caroli, P. Merklen, Pagniez, Tzanck, et à l'Académie de Chirurgie par MM. Leveuf et Soupault.

De notre côté, nous avons voulu baser notre expérience personnelle à ce sujet sur l'étude d'un certain nombre de cas de toute nature. Tous les malades ont été l'objet d'une longue surveillance clinique et de nombreux contrôles sérologiques.

*
* *

Juger avec certitude du résultat d'une thérapeutique dans les affections à staphylocoque, nous paraît, en effet, particulièrement difficile.

Il est peu d'affections aussi capricieuses. Chacun connaît les rémissions spontanées de la furonculose, ses réveils subits

après des semaines, des mois ou des années. Quelquefois la maladie s'arrête sans qu'on sache pour quel motif. Voici, par exemple, un sujet qui souffre de staphylococcies cutanées de l'âge de six ans, à l'âge de vingt-trois ans ; il reste pendant six ans sans nouvel accident et, à partir de l'âge de vingt-neuf ans jusqu'à quarante, présente des accidents ininterrompus. On le traite par l'anatoxine, sa maladie paraît guérie. Il n'a pas eu de récidive depuis neuf mois. N'aura-t-il plus de nouveaux accidents ?

Il est toujours difficile de parler de guérison d'une staphylococcie cutanée. Il est indispensable d'observer le malade longtemps après la fin du dernier épisode. Il faut hésiter à parler de succès thérapeutique quand coïncident chez un malade l'amélioration des accidents et la mise en œuvre de telle ou telle méthode.

Les mêmes hésitations se retrouvent pour les staphylococcies graves. Dans l'ostéomyélite, rien n'est plus difficile que de prévoir l'évolution des lésions locales et des troubles généraux.

Dans les septicopyohémies les plus sévères, qui gardent, dans l'ensemble, le pronostic fatal que l'on connaît, des guérisons peuvent cependant se produire alors qu'on perdait tout espoir.

Ces réserves étant indiquées, examinons l'ensemble de nos résultats.

*
* *

La thérapeutique par l'anatoxine et le sérum, employés isolément ou conjointement, a été appliquée à des staphylococcies cutanées, à l'ostéomyélite, à quelques suppurations rénales de long cours, à des septicémies.

I. — ÉVOLUTION DES STAPHYLOCOCCIES TRAITÉES PAR L'ANATOXINE.

Nous donnons ci-contre un tableau résumé de nos observations. Seules ont été retenues celles qui avaient pu faire l'objet d'une assez longue surveillance. Plutôt que de détailler chacune des observations, dont beaucoup sont calquées les unes sur les autres, nous avons cru préférable d'exposer assez longuement un certain nombre de cas intéressants par l'évolution ou les incidents rencontrés en cours de traitement.

Encore indécis au début de notre expérimentation sur la technique même du traitement, nous n'avons pas toujours espacé également les injections successives, ni employé les doses aujourd'hui bien définies. C'est pourquoi la dose totale d'anatoxine injectée est indiquée pour chaque observation.

Nous avons réuni aux staphylococcies cutanées les abcès tubéreux de l'aisselle.

OBSERVATIONS PARTICULIÈRES

OBSERVATION 4. — Enfant LE L..., 6 ans 1/2. — *Staphylococcie maligne non influencée par le traitement. — Mort.*

Ne présente aucun antécédent particulier, hormis, à 2 ans 1/2, une coqueluche au cours de laquelle se sont déclarés de nombreux abcès.

En octobre 1934, se déclare un panaris de l'index droit, évoluant lentement en un mois et demi. Au cours de l'évolution de ce panaris, se développent de nombreux abcès d'évolution traînante.

Nom.	Nature de l'affection	Titre avant traitement	Traitement en c.c. Anatoxine	Titre après traitement	Evolution	Durée d'observation en mois.
Dut.....	Furonculose chronique	0,5 - 1	5	10	Guérison	10
Glem.....	____ d° ____	0,75	5	40	____ d° ____	10
Mar.....	Acné pustuleuse et Furoncles.	1	6	6,5	Récidive après 3 mois	9
Ris.....	Furonculose chronique	1	5,5	4,5	Guérison	10
Lef.....	____ d° ____	1	6	6,5	____ d° ____	9
Cab.....	Anthrax et furoncles chroniques	0,75	5	16,5	____ d° ____	4
Peq.....	____ d° ____	2,5	5	10	____ d° ____	4
Cas.....	____ d° ____	1,25	5 / + 5	3,5 / 4,5	Atténuation	4
Feb.....	Staphyloccie cutanée multiple.	?	2	15	Guérison	5
Bar.....	Furonculose à répétition	1	5	7	____ d° ____	7
Fe.....	Furoncles. Fistules Kératite.	< 0,5	2	15	____ d° ____	7
Mar.....	Acné pustuleuse + Furoncles.	1 - 1,4	6	6 - 8	Récidive après 2 mois	4
Mon.....	Staphylococcie cutanée récidivante	< 1	5 / + 5	10 / < 5	Guérison	6
B.....	Hydrosadénite	< 0,5	8,5	> 10	____ d° ____	3
Leg..... Nourrisson	Anthrax et Furoncles.	< 0,5	1,25	?	____ d° ____	2
Jum..... Nourrisson	Staphylococcies cutanées multiples	< 0,5	0,75	> 2	Inchangée	2
Leg..... Nourrisson	Abcès du cuir chevelu.	?	1	< 1	____ d° ____	3
Des..... Nourrisson	Furonculose et Otite	?	1	> 2	____ d° ____	2
Sim.....	Furonculose chronique	< 0,5	5	5	Amélioration	7

Nom	Nature de l'affection.	Titre avant traitement	Traitement en c.c. Anatoxine	Titre après traitement	Evolution	Durée d'observation en mois.
Bo.....	Furonculose chronique.	4	5 c.c. / + 5 c.c.	4 / 4,5 _ 5	Guérison	9 mois
Le L.....	Sta. Cutanée généralisée	8 (après sérum)	$\frac{1}{4}$ - $\frac{1}{2}$ - 1 / + $\frac{1}{4}$ - $\frac{1}{2}$ - 1	25 / 25 _ 30	Mort	6
Boul..	Furonculose chronique	?	5 + 5	5	Guérison	9
Le B.....	Sta. Cutanée (Ancienne Ostéo)	0,25	$\frac{1}{4}$ - $\frac{1}{2}$ - $\frac{3}{4}$ - 1	10 - 15	Récidive après 6 mois	8
Leb.....	Furonculose chronique	0,75	5 c.c	10	Guérison	12
Hal.....	___ d° ___	0,25	5 c.c / + 5 c.c.	5 - 6,6 / 5 - 6,6	Echec	9
Meil.....	___ d° ___	1 _ 2	5 c.c	?	Guérison	6
Leib....	Hydrosadenite chronique	< 0,2	6 c c.	10 - 15	___ d° ___	4
Cha.....	Anthrax Embolies cutanées	0,5	2,75	10	___ d° ___	12
Lec.....	Furonculose chronique	?	5	8	Récidive après 3 mois	7.
Dea.....	___ d° ___	2	5	10	Récidive après 6 mois	10
Val.....	___ d° ___	0,6 _ 1	5	8	Guérison.	6
Buc.....	Abcès sous cutané.	1,4 _ 2	1.6	25 - 30	___ d° ___	6
Leo.....	Furonculose chronique.	0,6 _ 1	5	3,5	Echec	8
Chev....	___ d° ___	?	5	4	Guérison	10
Fer.....	Anthrax - Abcès chronique	3,3 _ 4	5	15 - 20	___ d° ___	7
Cath.....	Furonculose chronique	1	5	> 33	___ d° ___	11
Hun....	Eczéma infecté Furonculose aigue	1	5	4	___ d° ___	3
Ben.....	Furonculose chronique.	?	5	10 _ 16	___ d° ___	12
Delp.....	___ d° ___	?	4,5	10 - 15	Récidive après 3 mois	9

Le 27 décembre 1934, on trouve à l'examen de nombreuses collections purulentes disséminées sur le dos, la face externe des cuisses, le cuir chevelu. Ces collections sont douloureuses spontanément et à la palpation.

Etat général touché, fièvre autour de 38°.

Dès ce moment, le prélèvement démontre le staphylocoque doré.

L'enfant reçoit du 25 au 30 décembre 1934, puis du 9 au 15 janvier 1935, trois injections de Propidon.

Au début de janvier, suppuration très abondante des collections qui se fistulisent, donnent un pus verdâtre, épais, bien lié, sans odeur. La fièvre oscille entre 37°5-38°5.

Pendant les trois premiers mois de l'année 1935, suppuration intarissable de tous les foyers, nullement améliorée par des frictions mercurielles, des séances de rayons U. V., des injections de sang maternel, le traitement par un bactériophage, l'application locale de solution iodo-iodurée.

C'est dans ces conditions que l'on essaie le traitement sur un enfant très amaigri, très fébrile.

Du 11 au 16 avril, il reçoit par doses fractionnées, 50 cc. de sérum antistaphylococcique.

En mai 1935, on compte, en évolution, 17 foyers de suppuration. Leur nombre augmente chaque jour

Le 29 mai, en même temps, on commence le traitement à l'anatoxine et on pratique une prise de sang par titrage de l'antitoxine : 8 unités.

29 mai, 1/4 cc.
6 juin, 1/2 cc.
11 juin, 1 cc.

Aucune dénivellation nette de la courbe thermique après l'injection.

Le 25 juin : diminution sensible des suppurations, mais,

Le 2 juillet : la suppuration reprend. Une kératite s'est développée ; l'état général est très précaire.

De nouvelles injections d'anatoxine sont pratiquées.

31 juillet : 1/4 cc.
10 août : 1/2 cc.
23 août : 3/4 cc.

Les suppurations ne tarissent pas, mais, au contraire, de nouvelles collections purulentes se forment à l'épaule, au cuir chevelu.

Du 5 au 9 novembre : 0,60 acide ascorbique.

Finalement en décembre, l'enfant est couvert de localisations suppurées, laissant des orifices fistulaires à bords déchirés, laissant sourdre un pus crémeux verdâtre.

Succombe cachectique le 29 janvier 1935.

En dépit de l'injection de 50 cc. de sérum, en dépit de deux séries d'injections d'anatoxine, l'enfant finit par succomber sans qu'on ait vu, à aucun moment, une amélioration de son état, sans que la thérapeutique ait enrayé les poussées subintrantes d'abcès staphylococciques.

Il est difficile d'admettre dans ce cas que l'anatoxine n'ait pas donné une immunité antitoxique.

Les dosages successifs de l'antitoxine montrent :

29 mai 1935 : 8 unités.
15 juin 1935 : 19-20 unités.
21 juin 1935 : 25 unités.
31 octobre 1935 : 25-30 unités.

Des examens complémentaires ne révèlent pas, non plus, de cause particulière expliquant la résistance à la thérapeutique.

1° Des ensemencements multiples n'ont jamais montré aucun autre germe que le staphylocoque (l'ensemencement sur milieu de Sabouraud et de Loewenstein est négatif).

2° La cuti-réaction est négative.

3° La réaction de Wassermann est négative.

4° Glycémie : 0,80.

Epreuve d'hyperglycémie du 25 février 1935 donne :

A jeun :

9 h. Glycémie : 0,82 Glycosurie : 0

Après injection de 30 gr. de glucose :

9 h. 30	Glycémie :	1,58	Glycosurie : 0
10 h.	—	1,51	— 0
11 h.	—	1,08	— 0

soit une aire de : 0,95.

OBSERVATION 9. — Enfant LEB... Robert, 2 ans. — *Abcès cutanés sur cicatrice d'ostéomyélite. Anatoxine. Récidive après 6 mois.*

A l'âge de 8 mois 1/2, 8 kg. 190, le 25 novembre 1934, abcès sous-cutané de la région postérieure de l'oreille droite.

Le 2 décembre 1935, grosse tuméfaction du pied, de la jambe et du genou gauches. Il s'agit d'une ostéomyélite aiguë pour laquelle l'enfant subit un grattage du tibia.

Après élimination d'un séquestre de 6 cm. le 15 janvier, la plaie se cicatrise rapidement.

Mais, à plusieurs reprises, entre janvier et juillet, la cicatrice présente en l'une de ses parties un petit abcès superficiel qui évolue sans élimination d'esquille.

L'enfant reçoit, alors, le traitement d'anatoxine suivant :

18 juillet 1935 : 1/4 cc.
25 juillet — : 1/2 cc.
1er août — : 3/4 cc.
22 août — : 1 cc.

Le titre antitoxique du sérum passe de 0,25 unités (21 juillet) à 10-15 unités (23 septembre).

A la suite de ce traitement, il ne se produit plus aucun phénomène anormal au niveau de la cicatrice.

Le 11 décembre : 2 ans 9 mois, 12 kg. 950.

On parle de guérison quand apparaît de nouveau une tuméfaction de la cicatrice et un nouvel abcès cutané évolue.

OBSERVATION 15. — LEH..., Georges, 16 ans. — *Staphylococcies cutanées à répétition depuis 2 ans. Anatoxine. Guérison se maintenant depuis 12 mois.*

Sujet, qui, depuis 1933 n'a jamais été « un jour sans avoir quelques furoncles en évolution ». A essayé de nombreux traitements : étain, autohémothérapie.

Le 27 juillet 1935 présente 15 gros furoncles en évolution.

Reçoit le traitement suivant :

27 juillet 1935 : 0,25 cc.
29 juillet — : 0,50 cc.
31 juillet — : 1 cc.
2 août — : 1 cc.
6 août — : 1 cc.
14 août — : 1 cc.

Après traitement, le titre antitoxique est passé de 0,75 unité (27 juillet) à 10 unités (20 août).

Au début de septembre, tous les furoncles en évolution se sont cicatrisés, aucun n'est apparu.

La guérison complète se maintient depuis.

OBSERVATION 19. — LEI..., 35 ans. — *Abcès tubéreux de l'aisselle. Anatoxine. Guérison.*

Depuis cinq ans, hydrosadénites à répétition, ayant abouti plusieurs fois à la suppuration, très douloureux. Dans l'intervalle des poussées, sensibilité de la région.

Avant tout traitement, le titre antitoxique est $< 0,2$ unité.

Reçoit :

15- 9-35 : 0,25 cc.
17- 9-35 : 0,50 cc.
24- 9-35 : 0,75 cc.
31- 9-35 : 1 cc.
7-10-35 : 1 cc.
14-10-35 : 1,5 cc.

Pendant le traitement, le dosage d'antitoxine du sérum montre 10 et 15 unités (25-9-35).

Dès la 2e piqûre, une amélioration nette est signalée.

A la 4e piqûre, il ne persiste plus rien.

4 mois après, le malade est revu, il n'y a plus eu une seule poussée. Signale qu'il a déjà eu des rémissions aussi longues, mais que, jamais on n'avait observé dans l'intervalle une *restitutio ad integrum.*

OBSERVATION 20. — CHA..., 65 ans. — *Furoncle de l'aile du nez. Manifestations cutanées à type embolique. Guérison.*

Le sujet a déjà fait, en 1934, un gros anthrax de la cuisse ayant nécessité une intervention chirurgicale. Sa femme a fait, d'ailleurs, une staphylococcie généralisée en 1934 et présente, de temps à autre un furoncle.

Rien à signaler dans l'état général. Ni hyperglycémique, ni glycosurique.

Le 18 septembre 1935, il présente un très gros anthrax de l'aile droite du nez. Le lendemain, un bourbillon s'élimine, 2 autres cratères se forment.

Le 20 septembre, amélioration locale, mais fièvre à 38°5 et une poussée d'éléments apparaît sur le corps. Ce sont des papules rouges de la grandeur d'une pièce de 0,50 à 1 fr., indurées douloureuses, certaines ayant au centre une coloration violette. On en compte une trentaine ; une de ces papules exfolie son épiderme.

Tous ces éléments évoluent sans suppuration mais, pendant plusieurs jours, la température est à 38°, un frisson important fait pratiquer une hémoculture (qui est négative).

Le 24 septembre, l'anthrax peut être considéré comme guéri.

Les éléments cutanés disparaissent en une huitaine de jours.

Depuis, le malade n'a plus présenté aucune manifestation staphylococcique.

Le traitement a été le suivant :

18 septembre 1935 : 0,25 anatoxine.
20 — — : 0,50 —
22 — — : 1 cc.
27 — — : 1 cc.

Les 2 premières injections ont été suivies de réactions locales, rougeur et douleur.

Après traitement, le taux d'antitoxine du sérum est passé de 0,5 à 10 (15 octobre).

OBSERVATION 49. — HUM... Ch... — *Eczéma généralisé infecté. Furoncle de l'aile du nez. Réactions au cours du traitement. Guérison.*

Malade présentant un eczéma rebelle à de nombreuses thérapeutiques (autohémothérapie, traitement local).

Infection locale à la suite de grattage et en même temps furoncle de l'aile du nez.

Reçoit le traitement suivant :

6 décembre 1935 : 0,25 cc.
9 — — : 0,50 cc.
16 — — : 0,75 cc.
27 — — : 1 cc.

Amélioration rapide de l'infection et guérison du furoncle de l'aile du nez.

Mais chaque piqûre a été suivie d'une douleur locale vive sans rougeur, d'une fatigue accentuée.

On a observé après la première, une sensation de tension locale avec epistaxis.

Dans les heures qui ont suivi la seconde injection, une petite hémorragie intestinale que n'explique aucune cause locale.

Titre antitoxique du sérum :

6 décembre 1935 : 1 unité.
15 janvier 1935 : 4 unités.

OBSERVATION 72. — CAS... Charles, 50 ans. — *Long passé staphylococcique. Furoncles subintrants. Traitement prolongé à l'anatoxine. Guérison.*

Ce sujet a présenté, il y a dix ans, une poussée sévère d'hydrosadénite qui marque le début d'une infection staphylococcique subaiguë à type de furonculose, panaris périunguéaux.

La furonculose est très nettement influencée par l'ingestion de mets sucrés. Au point qu'il a supprimé de lui-même tous les hydrates de carbone de son alimentation. Il n'est, cependant, pas hyperglycémique ni glycosurique.

Avant le traitement : le titre antitoxique du sérum est de 1-1,5 unité.

Il reçoit :

15 décembre 1935 : 0,1 cc.
18 — — : 0,25 cc.
22 — — : 0,50 cc.
30 — — : 1 cc.
6 janvier 1936 : 1,5 cc.
12 — — : 1,5 cc.
20 — — : 2 cc.

Pendant cette vaccination, quelques nouveaux furoncles apparaissent.

Le 27 janvier 1936 : 2,5 unités antitoxiques par cc.

Une deuxième série d'anatoxine est pratiquée.

27 janvier 1936 : 2 cc.
3 février — : 2 cc.
10 — — : 2 cc.
17 — — : 2 cc.

Chacune de ces injections réveille légèrement les cicatrices de furoncles anciens.

Depuis cette vaccination, la furonculose s'est éteinte. Il n'a pas eu de manifestation nouvelle depuis 5 mois et pour la première fois, l'ingestion de sucre, même en abondance, est indifférente.

Le titre antitoxique final est de 4,5 unités.

OBSERVATION 83. — B... Jacqueline, 14 ans. — *Hydrosadénites. Traitement par l'anatoxine. Guérison. Récidive. Reprise du traitement. Guérison.*

Pendant l'hiver 1934, poussées discrètes d'acné pustuleuse des épaules.

En avril 1935 : furoncle de l'aile du nez évoluant rapidement

après ouverture au thermocautère. Etat général médiocre, amaigrissement.

Le 15 mai, hydrosadénite gauche qui évolue avec des interruptions de cinq à huit jours, jusqu'à la fin de juillet, malgré autohémothérapie (8 injections de 10 cc. espacées de 4 en 4 jours). Poussées thermiques jusqu'à 38°3. Etat général médiocre.

En juillet : hydrosadénite droite à foyers multiples. 15 injections d'un autovaccin restent sans résultat.

Le titre antitoxique du sérum est alors inférieur à 1/2 unité.

Le traitement par l'anatoxine est pratiqué de la façon suivante :

17 août 1935 : 0,5 cc.
24 — — : 2 cc.
31 — — : 2 cc.
7 septembre : 2 cc.

Le début du traitement coïncide avec la cessation complète des poussées.

Du 15 au 28 septembre, réapparition de points de folliculite des aisselles ; ils avortent sans suppurer.

28 septembre : 2 cc. anatoxine.
4 octobre : 2 cc. anatoxine.

Disparition de toute poussée inflammatoire ; reprise de poids (1.500 gr.), amélioration de l'état général. Cependant, la température n'est pas stabilisée ; il y a encore des poussées à 38°.

En janvier, il n'y avait pas eu de nouvel accident staphylococcique et l'état de santé était satisfaisant.

Titre antitoxique après traitement (10 octobre), > unités.

Dans les infections cutanées dues au staphylocoque, les résultats de la thérapeutique par l'anatoxine nous ont paru très favorables. Très souvent la guérison a été obtenue là où avaient échoué les autres méthodes thérapeutiques.

Nous avons observé la guérison dans 70 % des cas étudiés et dans lesquels il nous a paru légitime d'attribuer la guérison au traitement par l'anatoxine.

Dans les échecs nous comptons les cas où au bout de 3

à 6 mois la récidive s'est produite, avec des manifestations souvent au moins aussi violentes que lors des poussées antérieures et, aussi, les échecs complets où l'évolution de la maladie n'a nullement été modifiée.

Dans ces cas aucune cause locale ou générale ne vient expliquer l'échec de la thérapeutique.

II. — ÉVOLUTION DES INFECTIONS RÉNALES CHRONIQUES TRAITÉES PAR L'ANATOXINE.

Nous avons eu l'occasion d'appliquer trois fois la thérapeutique à des malades atteints de pyonéphrose.

Les trois essais sont des échecs.

Voici, par exemple, l'observation d'un de nos sujets.

Dr M... *Pyonéphrose à staphylocoques.*

Fait une grippe en février 1935 : manifestations rhino-pharyngées, toux et courbature. La fièvre tombe.

Quoique fatigué reprend ses occupations, mais au bout de quelques jours apparaissent : cystalgie et uréthrite.

48 heures après, fièvre autour de 38°, violente douleur du flanc gauche et de la région sous-costale. Bien que la fièvre disparaisse de nouveau, reste fatigué et continue de souffrir par intermittences.

Finalement, 15 jours après l'épisode grippal, on pratique une séparation des urines : pyurie gauche à staphylocoques (pas de B. K.).

Etat général médiocre malgré repos, longues vacances, cure à Capvern.

En octobre est commencée la thérapeutique. A ce moment,

pyurie franche, le culot de centrifugation contient le staphylocoque en état de pureté.

13 octobre : dosage d'antitoxine : 0,2.
15 octobre : 0,25 cc. anatoxine.
17 — 0,50 cc. —
19 — 1 cc. —
25 — 0,75 cc. —

Aucun changement : titre antitoxique : 1,5.

4 novembre : 1 cc. anatoxine.
12 — 1,5 cc. —
20 — 1,5 cc. —

En janvier, il n'y a aucune modification locale mais l'état général est nettement meilleur.

En résumé, nous n'avons observé aucune amélioration locale à la suite du traitement des affections chroniques du rein à staphylocoques.

III. — ÉVOLUTION DES OSTÉOMYÉLITES SOUMISES A LA THÉRAPEUTIQUE SPÉCIFIQUE.

Grâce à l'extrême obligeance du Docteur Jacques Leveuf, qui a bien voulu nous permettre l'étude des malades de son service à l'Hôpital Bretonneau, nous avons pu suivre de près l'évolution de l'ostéomyélite et les effets de la thérapeutique spécifique.

Les recherches que nous avons faites nous paraissent d'autant plus valables qu'elles ont été réalisées dans de bonnes conditions : un certain nombre d'enfants pouvaient servir de témoins au cours de ces essais, puisqu'ils n'étaient

pas soumis au traitement par l'anatoxine, mais bénéficiaient uniquement du traitement habituel de l'ostéomyélite, tel qu'il est mis en œuvre dans le service.

Des expériences préliminaires ont permis de préciser les modifications sérologiques spontanées au cours de l'évolution de l'ostéomyélite.

Chez 14 enfants, les prélèvements que nous avons faits à des dates variées, entre le premier et le deuxième mois, ont fourni des résultats à peu près comparables (0,5 à 2 U. A. T.). L'augmentation spontanée du pouvoir antitoxique du sérum est donc nulle ou relativement peu marquée au cours de l'ostéomyélite.

Deux cas, cependant, font exception à la règle par le titre élevé de l'antitoxine (3,5 et 5 U. A. T.). Fait qui mérite de retenir l'attention, ces deux enfants avaient reçu des injections de plasma de convalescents d'ostéomyélite. Ce fait mérite d'être signalé mais ne permet, à l'heure actuelle, aucune interprétation. Le pouvoir antitoxique du sérum n'a pas été titré chez les convalescents donneurs de plasma.

Ni au stade initial de l'ostéomyélite, ni au cours de l'évolution, ne s'observent de modifications nettes dans l'immunité antitoxique, à condition que le sujet n'ait pas reçu l'anatoxine. Par contre, sous l'influence de la vaccination le taux des antitoxines s'élève rapidement, nettement. Il ne décroît que lentement et s'affaiblit de 5 à 9 mois après la vaccination.

La thérapeutique par l'anatoxine modifie-t-elle l'évolution clinique de l'ostéomyélite ? Il ne nous a pas paru que l'évolution des ostéomyélitiques vaccinés différât de celles des sujets témoins. De nouvelles localisations sont apparues ou bien la suppuration chronique s'est installée, chez les vaccinés comme chez les non vaccinés, dans les mêmes proportions.

Le Professeur Ombrédanne ne s'exprime pas autrement.

« Nous n'avons pas eu l'impression que l'évolution clinique de l'ostéomyélite des adolescents ait été influencée en quoi que ce soit par la nouvelle thérapeutique (anatoxine) ».

Sans rapporter toutes nos observations, qui toutes ne sont que des histoires banales d'ostéomyélite, nous en relaterons simplement deux.

OBSERVATION 8. — Enfant DEN... Georges. — *Traitement prolongé d'une ostéomyélite par l'anatoxine. Pas de modifications évolutives.*

Le 2 juin 1936, l'enfant aurait eu un traumatisme important au poignet.

Le 15 juin, il est hospitalisé à l'hôpital Bretonneau parce qu'il fait de la fièvre entre 38°5 et 40°. Il existe un abcès sous-cutané du poignet gauche, sans signes d'arthrite. L'enfant se plaint de la jambe droite : il y a un point douloureux à la face interne de la malléole interne droite.

L'abcès est incisé. Il contient du staphylocoque doré. Une hémoculture est négative (même résultat les 21 et 26 juin).

Le poignet, la jambe et le pied droit sont immobilisés dans le plâtre.

Pendant les jours suivants, l'état général reste grave, la température entre 38°5 et 40°.

Le 25 juin : L'incision du poignet suppure peu, la cheville est rouge.

Le 2 juillet : Une fistule existe au niveau de la styloïde radiale, un abcès sous-cutané s'est déclaré à la cheville.

C'est dans ces conditions que l'on commence *le 4 juillet*, un traitement par l'anatoxine.

Après dose d'épreuve de 1/10 cc. intradermique bien supportée, l'enfant reçoit :

4	juillet :	0,25 cc.	anatoxine.
9	—	0,50 cc.	—
20	—	1 cc.	—

La vaccination modifie le pouvoir antitoxique du sérum :

4 juillet : 0,5 unité par cc.
15 — 1 —
31 — 4 —

Pendant cette vaccination on a pratiqué :

Le 5 *juillet*, l'incision de l'abcès de la cheville.

Le 13 *juillet*, la résection du tibia, immédiatement suivie de la chute de température à la normale.

Depuis, l'évolution est celle d'une ostéomyélite habituelle.

Le 7 *septembre*, nouvelle incision d'un abcès sous-cutané de la cheville.

Le 10 *octobre*, la plaie du poignet continue de donner du pus, celle de la jambe une sérosité sanglante.

A la date du 19 *octobre*, la plaie de la jambe commence à bourgeonner.

Du mois d'octobre au mois de novembre, l'évolution est normale.

Le 18 *novembre*, abcès sous-cutané à staphylocoques du poignet gauche, incisé le 22.

Pendant les mois de décembre et janvier 1936, fistules permanentes du poignet droit, de la jambe droite.

Les dosages d'antitoxine montrent :

6 décembre : 8 unités.
27 — 5 unités.

En somme, la vaccination n'a pas modifié l'évolution des foyers ostéomyélitiques primitifs, ni empêché une nouvelle localisation sous-cutanée. C'est dans ces conditions, étant donné que l'immunité antitoxique développée par la vaccination a été faible, que l'on commence une deuxième série d'anatoxine.

27 février 1936 : 0,25 cc. anatoxine.
3 mars — : 0,50 cc. —
12 — — : 1 cc. —
22 — — : 1,5 cc. —
30 — — : 2 cc. —

Après cette vaccination, le pouvoir antitoxique du sérum s'élève à 12 unités.

Pendant ce temps, l'évolution clinique est la suivante :

3 *mars* 1936, lésions ostéomyélitiques du tibia en extension.

1er *avril*, grattage et évidement large du tibia.

13 *mai*, suppuration très abondante.

Elle se poursuit jusqu'en octobre, avec plusieurs poussées fébriles par rétention, élimination de deux séquestres au niveau du poignet, constitution d'un séquestre au niveau du péroné droit.

OBSERVATION 60. — CADU... Françoise, 10 ans. — *Ostéomyélite trochantérienne et calcanéenne. Vaccination prolongée. Progression des lésions.*

Début de l'affection le 30 novembre 1935 par de la fièvre à 40° et un œdème douloureux de la cuisse.

Le 1er et le 3 décembre, l'enfant reçoit 1 et 1,5 de Propidon.

Le 5 décembre, dès son entrée dans le service du Dr Leveuf, incision et drainage d'un volumineux abcès de la cuisse gauche (1/2 litre de pus brun chamois, liquide contenant le staphylocoque doré en pureté).

Le 9 décembre, la suppuration continue, et une poche purulente, sous-épidermique, du talon gauche apparaît.

On se rend compte par l'examen radiologique qu'il existe deux foyers ostéomyélitiques, trochanter et calcanéum.

C'est dans ces conditions qu'on commence la vaccination :

20 décembre 1935	:	0,1	anatoxine.
23 — —	:	0,25	—
30 — —	:	0,50	—
9 janvier —	:	0,75	—
17 — —	:	1	—
24 — —	:	1,5	—
31 — —	:	1,5	—
8 février —	:	1,5	—

Pendant la durée du traitement, la suppuration a continué, une escarre s'est formée, puis amélioration de l'état général.

Le 14 février 1936 quitte le service. Taux des antitoxines : 30 *unités par cc.*

Revient en avril 1936, les lésions osseuses ont progressé.

Nous pourrions multiplier les exemples. Ils ne feraient que confirmer l'*inefficacité habituelle de la vaccination au cours de l'ostéomyélite confirmée.*

Cet échec thérapeutique n'est pas pour nous surprendre. On s'attaque ici à des localisations staphylococciques très spéciales, profondément installées dans l'os, milieu mal armé pour la lutte phagocytaire. Si l'on parvenait à élever encore le taux des antitoxiques circulantes, peut-être obtiendrait-on une action moins discutable.

A vrai dire, il nous paraît plus rationnel d'essayer une thérapeutique médicale, à la phase initiale de l'ostéomyélite pendant les quinze premiers jours qui suivent l'invasion microbienne. Pendant cette période l'ostéomyélite apparaît encore comme une maladie générale.

C'est pour vérifier cette hypothèse que nous avons soumis à la sérothérapie un certain nombre d'ostéomyélites, le plus rapidement possible après le début apparent de la maladie.

OBSERVATION 83. — FAL..., 10 ans. — *Ostéomyélite. Etat général alarmant. Sérothérapie au 10e jour. Amélioration très nette des symptômes généraux permettant une intervention retardée et efficace.*

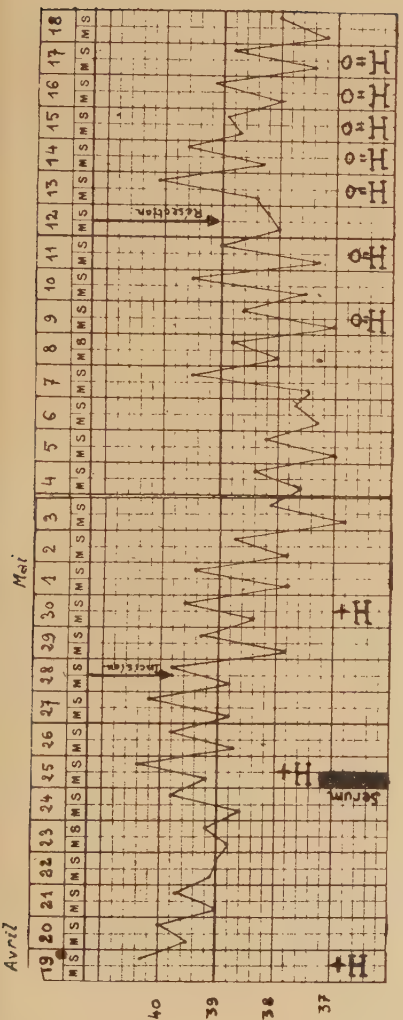
Le 15 avril 1936, vers 19 heures, l'enfant est pris, brusquement, de céphalée et de fièvre.

Le lendemain, la température reste à 39° ; l'enfant très fatigué, vomit à plusieurs reprises, accuse une douleur légère de la cheville gauche.

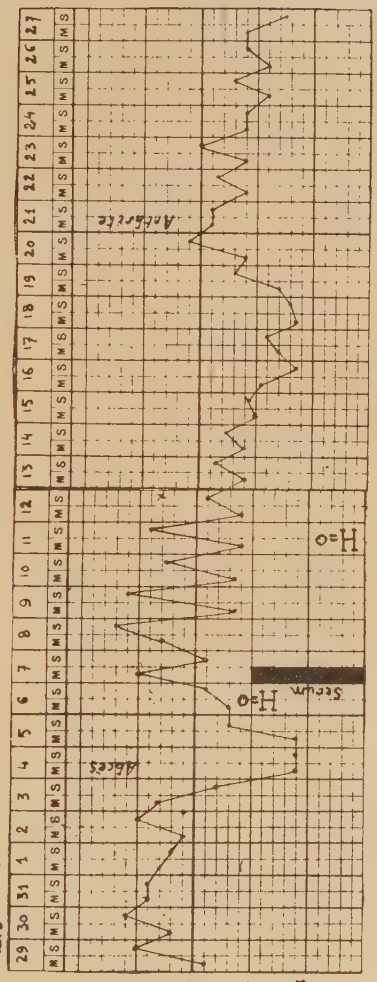
Le 17 et 18, il reste très fébrile et abattu ; la fièvre reste à 39° et 40° en plateau, la jambe gauche est augmentée de volume.

C'est dans ces conditions qu'il est adressé à l'hôpital, le 19 avril.

Obs. 83 - Fal....



Obs. 80 - Leo....



A son entrée, aspect général d'un typhique, avec langue sèche. L'enflure de la jambe droite et la constatation de points douloureux osseux fait porter le diagnostic d'ostéomyélite bipolaire du tibia gauche. Il est aussitôt immobilisé dans le plâtre.

Pendant les jours suivants, la température reste entre 39 et 40°, avec prostration, frissons, céphalée, oligurie.

C'est dans ces conditions d'extrême gravité et avec la notion d'hémocultures positives au staphylocoque le 19 et 24 avril, que l'on pratique le 25 *avril* 1936, une injection de 60 cc. de sérum antistaphylococcique.

Les jours suivants, il y a une amélioration nette de l'état général.

Remettant à plus tard une intervention directe sur le foyer, on se contente d'inciser, le 28 avril, une collection suppurée des parties molles de la jambe gauche.

A partir du 28 avril :

La température descend régulièrement et atteint 37° le 2 mai.

Elle remonte pendant les jours qui suivent, mais l'état général est bon.

Le 9 et le 11 mai, hémoculture négative.

Le 12 mai, sous-anesthésie générale, le Dr Leveuf, par une incision interne pratique facilement une résection diaphysaire sous-périostée.

Dès lors, l'enfant est mis dans le plâtre.

La guérison se fait sans fistulisation. Des radiographies de juin et juillet montrent une récalcification extrêmement rapide.

OBSERVATION 80. — LEO... Pierre, 10 ans. — *Ostéomyélite des tibias. Etat général grave. Sérothérapie au 11e jour. Amélioration des symptômes généraux. Aucune amélioration des signes locaux et nouvelle localisation.*

Entré dans un service de médecine pour douleurs des pieds et des chevilles survenues brusquement le 28 mars 1936 et accompagnées de fièvre à 40°.

On pose d'abord le diagnostic rhumatisme articulaire aigu et traite l'enfant par le salicylate de soude.

Le 5 avril, des abcès sont apparus à la partie inféro-externe et supéro-interne de la jambe droite, à la partie inférieure de la jambe gauche.

L'incision de ces abcès donne le staphylocoque doré en pureté.

Le 6 avril : hémoculture négative.

Passé dans le service du Dr Leveuf le 7 avril 1936.

Etat général grave.

Ostéomyélite de l'extrémité inférieure des 2 tibias.

L'enfant est plâtré et reçoit immédiatement 100 cc. de sérum antistaphylococcique.

Du 7 au 15 avril, amélioration de l'état général. Descente progressive de la température jusqu'à la normale.

A partir du 19 *avril,* reprise de la fièvre et des douleurs du cou-de-pied droit.

Le 22 avril, limitation des mouvements de la tibio-tarsienne droite. *Arthrite tibio-tarsienne.*

A partir de cette date évolution classique de l'ostéomyélite, fistulisations.

En septembre, abcès du 1/3 inférieur de la jambe.

En octobre, les lésions sont étendues à droite.

OBSERVATION 10. — MAB... Charles, 15 ans. — *Ostéomyélite. Etat général très grave. Traité par le sérum au 5e jour, puis anatoxine. Evolution habituelle.*

Un traumatisme du poignet gauche est suivi, 2 jours après, de douleur et de fièvre à 40°.

Au 5e jour, le 15 juillet 1935, l'enfant entre à l'Hôpital Bretonneau, dans un état grave.

Tout l'avant-bras droit et la partie inférieure du bras gauche sont œdématiés, la peau est rouge, douleur à l'extrémité inférieure et supérieure du radius, sans prise de l'articulation.

Le 18 juillet, 50 cc. de sérum antistaphylococcique.

Dans les jours qui suivent, l'état général s'améliore et la température descend pour atteindre 37°4 le 22 juillet.

Le 23 juillet, crochet thermique à 40°, il s'est formé un énorme

abcès qui est incisé le lendemain (liquide séro-hémorragique contenant des débris nécrosés — staphylocoque doré).

Résection du radius et plâtre.

Dès lors la température retombe à la normale et l'enfant reçoit :

23 juillet	0,25 cc.	anatoxine
31 juillet	0,50 —	—
10 août	1 —	—

Du 4 au 14 août, poussées thermiques non expliquées par des accidents locaux.

Ensuite, évolution vers la formation d'un séquestre enlevé le 24 octobre, la fistulation persiste jusqu'en décembre 1935.

Le taux antitoxique a été :

21 juillet 1935	1,25	Unité
31 octobre 1935	5	—
6 décembre 1935	7	—
22 janvier 1936	3,5	—
1er avril 1936	2,5	—

*
* *

Les observations précédentes permettent de définir la conduite à tenir dans la thérapeutique des ostéomyélites.

Les mauvais résultats de l'anatoxithérapie dans l'ostéomyélite chronique ne doivent pas faire abandonner tout essai nouveau.

Il paraît, tout au contraire, que la thérapeutique spécifique modifie heureusement la maladie, à condition d'agir précocement. L'ostéomyélite, aiguë à sa phase initiale, nous paraît une indication intéressante de la sérothérapie. L'injection de sérum a paru *modifier heureusement l'état général du patient,* sans empêcher, ni modifier, le déroulement ultérieur des processus locaux.

On sait qu'à l'heure actuelle, la question du traitement chirurgical de l'ostéomyélite est l'objet de discussions. Tan-

dis que certains restent continuateurs de la tradition et interviennent précocement dès le diagnostic posé, d'autres préfèrent attendre le déroulement de la phase initiale pour intervenir secondairement sur des foyers mieux localisés. Dans tous les cas, il paraît intéressant de recourir, le plus tôt possible, à la sérothérapie, qui met le malade en de meilleures conditions de résistance opératoire ou l'aide à traverser la phase difficile des quinze premiers jours.

Le sérum, administré seul ou comme temps préalable aux injections d'anatoxine, paraît un utile adjuvant de la thérapeutique chirurgicale. Mais, celle-ci garde, pour l'instant, tous ses droits en matière d'ostéomyélite.

IV. — SEPTICÉMIES TRAITÉES PAR LE SÉRUM ET L'ANATOXINE.

Les staphylococcémies jouissent d'une réputation légitime de gravité. Presque toujours leur pronostic est fatal.

Depuis 1935, on a rapporté à plusieurs reprises des observations de septicémies traitées par le sérum ou l'anatoxine ou par ces deux méthodes combinées. MM. Debré, Caroli, Merklen, Pagniez, Soupault, ont eu l'occasion de rappeler les heureux résultats de la thérapeutique spécifique.

De tels résultats méritent donc d'être pris en sérieuse considération et nous croyons qu'ils sont supérieurs à ceux des autres thérapeutiques.

Nous devons, cependant, faire quelques réserves. Le diagnostic de *septicémie* staphylococcique ne peut être affirmé que sur un ensemble clinique et sur la constatation, à

plusieurs reprises, du staphylocoque dans le sang, par des hémocultures en série, suivant une technique impeccable.

Il y a lieu d'isoler dans les staphylococcémies les formes suraiguës qui sont restées, jusqu'ici au-dessus de toute thérapeutique et les formes subaiguës qui donnent plus de prise au traitement. De telles septicopyohémies à staphylocoque ont quelquefois guéri sans l'emploi des thérapeutiques actuelles.

Il est bien évident, d'ailleurs, que les échecs de la thérapeutique n'ont pas été publiés.

Il faut, encore, se méfier des reprises tardives d'une infection qui paraissait éteinte.

Ainsi, par exemple, il nous a été donné de traiter un sujet présentant plusieurs arthrites et une orchite staphylococciques, suivies de septicémie (quatre hémocultures positives au staphylocoque). L'amélioration avait été franche. Deux mois après, l'état général était si bon que l'on parlait de guérison ; mais, peu après, la fièvre reparaît, des douleurs lombaires suivent qui font porter le diagnostic de phlegmon péri-néphrétique, puis de troubles myélitiques qui entraînent la mort.

C'est en toute objectivité que nous apportons ici plusieurs observations de septicémies staphylococciques, traitées par le sérum et l'anatoxine et ayant guéri.

OBSERVATION I. — *Staphylococcémie sévère. 7 localisations. Sérum et anatoxine. Guérison.*

(*Observation rapportée par M. R.* Debré *à la Société Médicale des Hôpitaux — 12 juillet* 1935).

Jean D..., 25 ans, étudiant en pharmacie, au cours de son service militaire à Strasbourg, avait remarqué vers le milieu du mois

de novembre 1934, la présence sur le cou-de-pied droit d'une petite plaie. Celle-ci est insignifiante, semble-t-il, mais entretenue par le frottement du brodequin.

Le 1er décembre apparaissent les premiers malaises : troubles digestifs et vive douleur de la région abdominale droite. On pense à la possibilité d'une appendicite et le malade est mis en observation, jusqu'au 18 décembre ; durant cette période, la température oscille de 37°5 à 39°.

A ce moment, il rentre à Paris. La pensée d'une fièvre typhoïde est éliminée par les résultats négatifs d'une hémoculture et d'un séro-diagnostic ; d'ailleurs un léger subictère attire l'attention sur le foie et le diagnostic d'angiocholite est envisagé. Les 23 *et 24 décembre*, le point de côté abdominal augmente ; il s'y ajoûte de violentes douleurs dans l'hémithorax gauche, bientôt suivies d'une toux quinteuse ; le malade expectore des crachats hémoptoïques abondants.

A l'auscultation, on trouve des signes d'induration pulmonaire et surtout des frottements pleuraux à la partie moyenne du poumon gauche. Du côté droit tout est normal.

Les jours suivants, la douleur thoracique augmente, tandis que les signes de percussion et d'auscultation restent les mêmes, la quantité de crachats est plus grande ; ils sont moins sanglants mais prennent une teinte chocolat. Au microscope ils apparaissent constitués par du pus et quelques cellules hématiques. Les polynucléaires sont pour la plupart extrêmement altérés. Sur les frottis le staphylocoque pullule et les cultures donnent à l'état de pureté des nappes de staphylocoques dorés. Le diagnostic d'abcès du poumon gauche s'impose. L'ictère s'accentue sans atteindre un degré extrême ; les selles sont peu décolorées, l'urine contient des pigments biliaires et de l'urobiline.

L'état général s'aggrave, de telle sorte que *le 4 janvier* le malade est pâle, anhélant, accablé de fatigue, couvert de sueurs, secoué par une toux incessante qui empêche tout sommeil. On recueille chaque jour 300 à 400 cc. d'expectorations.

Résumé de l'examen hématologique du *4 janvier* :

Globules rouges	1.848.000
Globules blancs	51.300
Hémoglobine	30
Pourcentage des polynucléaires ..	93,75 %

dont beaucoup d'éléments sont en état d'histolyse.

Le degré de l'anémie, qu'accompagnent l'hyperleucocytose et le taux très élevé de la polynucléose, montre la gravité de la maladie et coïncide avec les signes cliniques. Ceux-ci traduisent un processus général d'infection, qui déborde singulièrement le cadre d'une collection pulmonaire isolée. Cette impression est renforcée par l'apparition, *le 6 janvier*, d'un ictus avec perte de connaissance, aphasie complète, puis paraphasie, parésie, fourmillements et engourdissement du bras gauche.

Les troubles de la parole se reproduisent le lendemain.

Le 7 janvier, une culture du sang permet d'isoler, après quelques heures d'étuve, du staphylocoque doré et de confirmer le diagnostic d'infection sanguine sévère à staphylocoques.

Jusqu'alors le malade a été soumis à la thérapeutique habituelle des états infectieux d'étiologie imprécise et aux médications symptomatiques nécessitées par les localisations hépatique et pulmonaire (révulsion thoracique, poudre de Dover et potions calmantes, cryogénine, hyposulfite de soude, etc...).

Le diagnostic d'abcès du poumon et peut-être d'embolie microbienne cérébrale, manifestations pyohémiques d'une staphylococcémie, nous engage à tenter une médication spécifique ; aussi, les trois jours suivants, injectons-nous du sérum antistaphylococcique, préparé par M. G. Ramon, aux doses quotidiennes de 50 cc., 50 cc. et 60 cc., soit au total 160 cc.

Ce sérum, le seul dont nous ayons pu disposer à ce moment, considéré comme relativement peu actif, titrait 65 unités antitoxiques par centimètre cube. Ni la fièvre, ni les signes généraux ne furent influencés par cette sérothérapie, pas plus que trois injections intramusculaires d'électrargol qui lui succédèrent.

C'est cependant à ce stade de la maladie que l'ictère graduellement disparaît et que les urines redeviennent claires, débarrassées des pigments et des sels biliaires. Par contre, l'ensemble du

tableau clinique s'assombrit. La température dépasse 40°. L'anorexie, l'accablement, l'insomnie, l'anxiété sont à leur comble. De plus, l'auscultation du cœur dénote la présence, au voisinage de la pointe, d'un souffle assez doux, qui nous fait craindre, pendant quelques jours, une endocardite.

Le 11 janvier apparaît une localisation nouvelle au niveau du tibia gauche, où se développe un point d'ostéite qui n'aboutit pas à la suppuration.

En présence de l'augmentation de gravité, l'entourage accepte qu'on fasse un abcès de fixation. Celui-ci, ouvert le 18 *janvier*, donne issue pendant une dizaine de jours à une grande quantité de pus.

Cette collection et son évacuation semblent exercer une influence favorable. La température baisse, en lysis, elle atteint même 37° *le 19 janvier*, et pour la première fois depuis longtemps, le malade dort cette nuit-là. L'expectoration est moins abondante, les crachats prennent une coloration jaune verdâtre, sont plus muqueux.

Mais l'amaigrissement s'accentue, et après deux à trois journées vraiment encourageantes, la fièvre se rallume et la courbe thermique reprend son allure oscillante.

A ce moment, M. Richou dose le pouvoir antistaphylococcique du sérum du malade. Celui-ci était de 2 unités, chiffre voisin de la normale. *Le 26 janvier*, nous injectons sous la peau de la cuisse 0,75 cc. d'anatoxine staphylococcique. La réaction locale est légère : rougeur discrète sans retentissement ganglionnaire. Par contre, on observe un mouvement thermique brusque et d'une durée de douze heures environ. En six heures, l'acmé, 40,7 est atteint. Il n'y a ni frissons, ni céphalée, ni vomissements. On enregistre, comme un excellent symptôme, une réaction locale très nette. Le lendemain de l'injection, les crachats sont teintés de sang et le point d'ostéite tibiale devient sensible, rouge et fluctue légèrement. Il ne se produit pas d'abcédation véritable ni d'ouverture à ce niveau. Bien que la température accuse une baisse, deux jours plus tard on perçoit les premiers signes d'un foyer pulmonaire au tiers inférieur du poumon droit.

Le 3 février, huit jours après la première inoculation, nous in-

jectons 1,5 cc. d'anatoxine staphylococcique. Pendant cette semaine la courbe thermique a oscillé entre 37° et 38°4, à un niveau nettement inférieur à celui de la période précédente.

La réaction thermique est encore nette, mais le clocher n'atteint que 39°1. La toux augmente ainsi que le volume total des expectorations.

Les 6, 7, 8 *février*, on acquiert la certitude de l'existence d'un abcès du poumon droit. Malgré cette complication, la courbe de température, après quelques écarts irréguliers, se régularise et se resserre entre 37°4 et 38°. C'est alors, le 16 février, que se développe rapidement un fluxion de la joue gauche dont la cause se révèle les jours suivants. Il s'agit d'une ostéite du maxillaire qui s'amplifie et s'accompagne d'une adénite.

Le 18 *février*, quinze jours après la deuxième injection d'anatoxine, nous en injectons à nouveau la forte dose de 3 cc. L'ascension thermique, toujours limitée à quelques heures ne dépasse pas 38°8 et n'accompagne aucun malaise général. Mais, cette fois, une réaction locale plus vive rougit la peau, qui est chaude et douloureuse pendant 24 heures.

Une collection purulente s'amasse au niveau d'un ganglion sous-maxillaire constituant un volumineux phlegmon et la fièvre, pendant 48 heures, reprend le type des grandes oscillations, de l'adénophlegmon, incisé *le* 20 *février*, s'écoule en abondance un pus fluide et assez bien lié. Le lendemain de l'incision une heureuse surprise nous est réservée. Jusqu'alors anorexique le malade ressent un appétit impérieux et réclame avec force de la nourriture. Ce symptôme, avant-coureur d'une amélioration de l'état général, est apparu alors que la fièvre n'avait pas encore cédé. Mais, un jour plus tard, par une descente de près de 2° la température atteint le niveau de 37°2 et se cantonne dorénavant entre 37°3 et 37°6, en même temps que les forces augmentent, que le teint se recolore et que, d'un examen à l'autre, on voit littéralement se reconstituer le pannicule adipeux.

A ce moment, on pouvait donc considérer le pronostic comme transformé et la convalescence comme devant être particulièrement écourtée pour une infection aussi sévère. Cependant, la maladie n'est pas terminée. Tandis que l'écoulement de pus de

la collection maxillaire n'était pas encore tari, les signes physiques du foyer pulmonaire droit se modifiaient et la participation pleurale qui s'était révélée dès le début par des frottements, occupait peu à peu le premier plan. En effet, une zone de matité chaque jour grandissante envahissait finalement les trois quarts de l'hémithorax. Dans cette zone, la diminution du murmure vésiculaire, un souffle doux et des modifications de timbre de la voix, ne laissaient pas de doute sur l'existence de liquide en grande quantité. Il y avait en même temps de la polypnée et de la tachycardie (120).

Nous ne saurions trop insister sur le contraste frappant entre l'état général et l'extension graduelle des signes locaux de l'épanchement.

Un examen de sang pratiqué *le* 11 *mars*, donne les résultats suivants :

Globules rouges	3.760.000
Hémoglobine	75
Globules blancs	30.000
Polynucléaires	69,75 %

L'anémie a donc considérablement rétrocédé, et si la leucocytose est encore élevée, le taux des polynucléaires est normal.

Au cours des trois injections antérieures d'anatoxine, à chaque réaction locale avait succédé une amélioration. La dernière injection en particulier, après avoir accéléré la formation du pus dans l'adénophlegmon maxillaire semblait vraiment avoir ouvert la voie à la convalescence.

Le 15 *mars*, quatre semaines se sont écoulées depuis la troisième injection d'anatoxine. A cette date, un dosage des unités antitoxiques du sérum est de 10 unités, chiffre très au-dessus du précédent et qui dénote déjà une immunité solide. Nous injectons alors, dans le tissu cellulaire de la cuisse, tout le contenu d'une grosse ampoule, soit : 8 cc.

Comme il fallait s'y attendre, la réaction thermique fut très réduite (38°8). Mais, cette fois, il se produisit une réaction locale intense, sous la forme d'une plaque d'érythème très étendue, de la largeur de deux paumes de main, embrassant les deux tiers

supérieurs de la cuisse, chaude, tendue, un peu œdémateuse, accompagnée d'un gonflement des ganglions de l'aine, qui étaient eux aussi assez douloureux. Un peu de céphalée et une nuit d'insomnie complétèrent cette réaction. Mais l'appétit ne fut pas atteint, la langue resta rose, l'état général resta bon.

La réaction locale a duré 48 heures, bientôt suivie des signes de réactivation des foyers. Le malade se remet à tousser et à cracher, ce qui ne s'était pas produit depuis quinze jours, la lésion du tibia, en sommeil, redevient sensible et rosit un peu.

Le 27 mars, un examen radiologique, montre une zone d'opacité homogène s'étendant de la base de l'hémithorax droit jusque dans la région sus-claviculaire, avec courbe à convexité supérieure. En position oblique, le sinus est un peu plus clair qu'en position frontale.

Par la ponction exploratrice, on retire un liquide épais, purulent.

Le 2 avril, le Dr Didier pratique l'opération de l'empyème avec résection costale, qui donne issue à près de 4 litres de pus bien lié, inodore, de coloration café au lait.

Ce pus contient en abondance du staphylocoque doré dont le pouvoir toxigène recherché par M. G. Ramon est semblable à celui du germe primitivement isolé.

Dans les semaines qui suivent, on assiste à l'assèchement progressif de la plèvre et au retour à une température normale.

Depuis longtemps, nous étions sans inquiétude sur l'avenir du malade ; son poids, qui était tombé à 42 kg. en janvier, était de 63 kg. à la fin d'avril.

Le 26 avril, l'hématimétrie permettait de dénombrer :

Globules rouges	5.400.000
Hémoglobine	90
Globules blancs	10.000
Polynucléaires	72 %

L'état général, les formes et l'entrain étaient de tous points excellents et en mai, définitivement guéri, notre ancien malade reprenait sa vie habituelle.

Voici donc une septicopyohémie à staphylocoques extrêmement sévère qui, contre l'attente des médecins, (tous avaient porté un pronostic fatal) finit par guérir, malgré deux abcès pulmonaires, une pleurésie purulente, un ictus cérébral, deux foyers d'ostéite métastatique, un adénophlegmon cervical secondaire. La gravité de l'état général, longtemps alarmant (amaigrissement intense, anémie profonde, ictère, prostration) témoignait de l'intensité de l'état infectieux, que vint affirmer encore la présence, en particulière abondance du staphylocoque dans le sang circulant.

OBSERVATION 2. — *Septicémie à staphylocoques traités par le sérum antitoxique et l'anatoxine.*

Evolution sans suppuration de diverses manifestations (urinaire, orchitique, articulaire).

Guérison définitive après évacuation d'une collection péri-rénale.

M. C..., 36 ans, blanchisseur, entre le 8 janvier 1936 dans le service du Dr Jacquet, à l'hôpital Ambroise-Paré, présentant depuis deux jours une température élevée.

Depuis une quinzaine de jours, il se sentait fatigué, sans appétit, présentait le soir de petits frissons.

Brusquement le 6 au soir, grand frisson avec sueurs, rachialgie, douleurs lombaires, puis douleurs abdominales à type de coliques irradiant dans les flancs et l'épigastre.

Le lendemain, la température est à 40°, le malade abattu, souffrant toujours, quelques nausées. Les urines sont rares, les mictions difficiles et douloureuses.

Le 8 au matin le médecin, impressionné par son mauvais état général, sa fièvre, sa dysurie, ses douleurs abdominales, l'envoie à l'hôpital avec le diagnostic de typhoïde.

Vu à son entrée le malade n'évoque pas l'idée d'une dothiénenterie. Il est assez animé, nullement abattu, le faciès coloré,

le corps couvert de sueurs. La température est à 40°, le pouls à 112, bien frappé.

Les douleurs abdominales ont disparu, le ventre est souple et indolore, pas de gargouillement de la fosse iliaque.

Le foie un peu gros déborde de 2 travers de doigt le rebord costal.

La rate est nettement percutable mais non palpable.

La langue est légèrement saburrale, humide. La gorge est uniformément rouge, avec un piqueté plus sombre.

Pas de diarrhée, pas de vomissements, pas de taches rosées.

Au cœur les bruits sont normaux, bien frappés, le pouls régulier, non dicrote, est à 112. La tension artérielle à 10 1/2-5 1/2 au Vaquez.

Poumons et reins paraissent normaux.

L'examen neurologique ne révèle rien d'anormal.

L'examen des urines ne peut être pratiqué, le malade n'ayant pas uriné.

On pratique alors une hémoculture en bouillon simple.

Le soir, à 16 heures, le malade n'a toujours pas uriné et présente de violentes douleurs hypogastriques dues à une rétention d'urine.

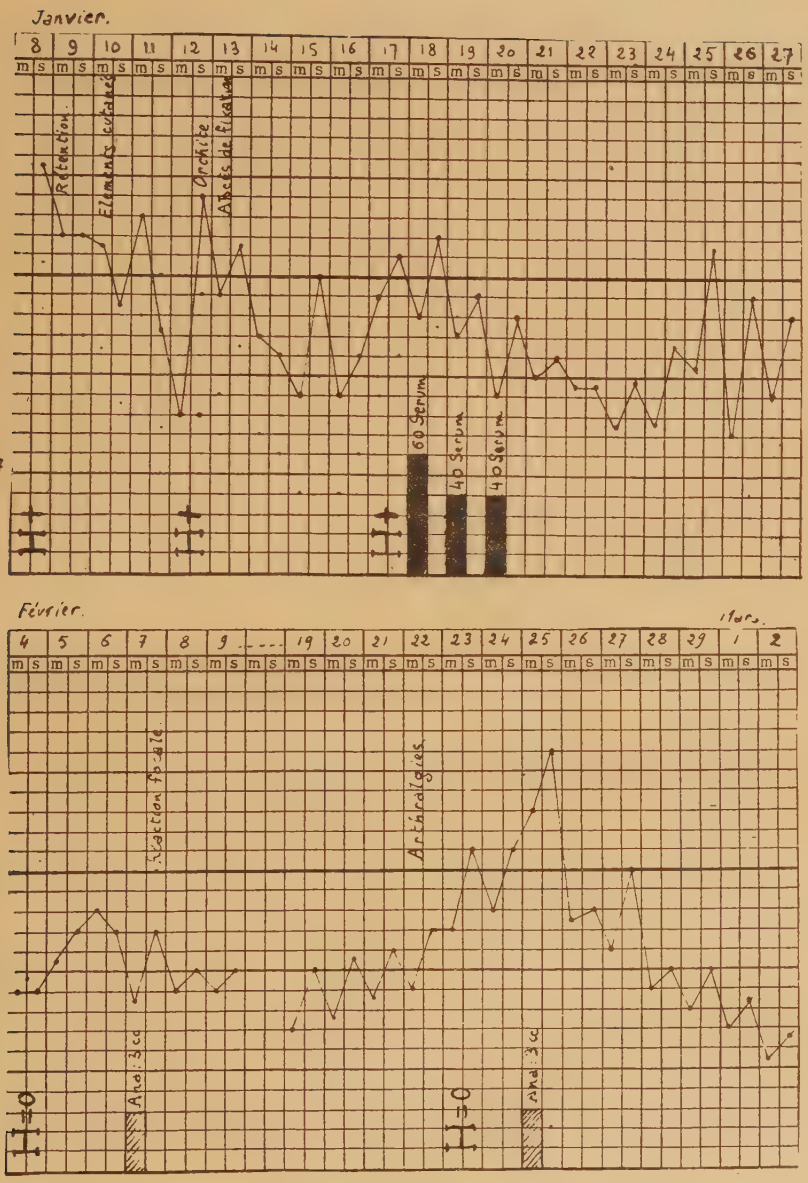
Un sondage aseptique ramène alors 750 cc. d'urine claire ne contenant ni sucre, ni albumine. On pratique un ensemencement sur gélose et en bouillon.

A la fin de cette première journée, les données cliniques sont réduites : on se trouve vraisemblablement en présence d'un état septicémie dont rien dans l'histoire du malade ne permet de suspecter la nature.

Du 9 au 11, l'état reste stationnaire, la température aux environs de 39°5. La réaction d'urine qui persiste oblige à des sondages bi-quotidiens, suivis d'instillation d'huile goménolée.

Le 10, on constate l'existence de deux petites taches maculeuses rosées, congestives, situées l'une à la face interne de la cuisse droite, l'autre à la face dorsale du poignet droit.

Le malade se plaint de douleurs violentes au niveau de l'épaule gauche dont les mouvements sont très limités.


Janvier.
8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27
m s
40
39
38
37
Rétraction.
Éléments cochard.
Orchite
Abcès de fixation
60 Serum
40 Serum
40 Serum
Février.
4 5 6 7 8 9 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 1 2
Mars.
Injection fessière
Artralgies.
Ana: 3 cc
Ana: 3 cc

Le 12, l'hémoculture se révèle positive au staphylocoque doré.

L'examen des urines montre la présence d'hématies, quelques polynucléaires, nombreux cocci en amas Gram + qui, en culture, donnent de nombreuses colonies de staphylocoques dorés.

Numération et formule sanguines :

Globules rouges : 4.300.000.
Globules blancs : 8.000.
Hémoglobine : 85 %.
Polynucléaires : 60 %.
Mononucléaires : 33 %.
Transition : 1%.
Urée sanguine : 0,44.
B. W. : négatif.

Le 13, la température qui semblait descendre à la normale remonte brusquement à 40° ; frissons, sueurs, violentes douleurs au niveau du testicule gauche. La peau du scrotum est à ce niveau rouge, chaude et œdématiée. La palpation très douloureuse montre un épidyme irrégulier et tuméfié coiffant le testicule augmenté de volume.

Une nouvelle hémoculture pratiquée ce jour montrera à nouveau la présence de staphylocoques dorés.

On pratique alors un abcès de fixation.

Le 17, aucune amélioration. La température est toujours aussi élevée, le malade est abattu, amaigri, les sueurs sont abondantes, l'abcès de fixation ne se collecte pas.

L'état général est extrêmement grave quand :

Le 18, on commence le traitement par le sérum.

On injecte sous la peau :

18 janvier : 60 cc.
19 — : 40 cc.
20 — : 40 cc.

Le 22, une légère amélioration se dessine. Le malade est moins abattu, la température descend au-dessous de 39°.

Le 23, la température est à 37°6 ; le malade assis dans son lit reprend appétit.

Accidents sériques légers : éruption urticarienne.

Du 25 au 2 février, la température remonte légèrement oscillant entre 37°8 et 38°8.

Elle retombe au-dessous de 38° lorsqu'on incise l'abcès de fixation maintenant collecté (pus à staphylocoques).

Le 5 février, une 3e hémoculture reste stérile, mais il existe toujours de nombreux cocci dans les urines.

Le 7 février, la température reste en plateau à 38° ; le malade est moins fatigué, ne souffre plus, s'alimente et urine bien.

Le soir, on lui injecte 3 *cc. d'anatoxine staphylococcique*. Cette injection n'entraîne ni réaction locale ni réaction générale, mais l'abcès de fixation donne le lendemain une quantité importante de pus ; l'épididyme gauche qui était redevenu à peu près normal est volumineux, très douloureux.

Du 7 au 20 février, la température persiste mais au-dessous de 38°.

Du 20 au 25, réascension thermique, arthralgies, quelques frissons ; néanmoins l'hémoculture reste négative.

On pratique *le 25*, une nouvelle injection de 3 *cc. d'anatoxine* qui entraîne une assez forte réaction générale : 40°2, sueurs, frissons, coryza, mais pas de réaction locale ou focale.

Du 25 au 11 mars, la température ira en s'abaissant progressivement pour atteindre 37°. Le malade s'alimente et reprend du poids.

Les urines recueillies le 15 mars ne contiennent plus de staphylocoques.

Tout n'est cependant pas fini puisque une nouvelle poussée thermique et de vagues douleurs lombaires attirent l'attention vers le rein droit et font suspecter une collection para-néphrétique.

Une lombotomie pratiquée le 5 avril par le Dr Desmarest, montre l'existence d'une légère collection para-néphrétique droite : une cuiller à soupe de pus contenant de nombreux staphylocoques.

Après cette intervention, le malade entre rapidement en convalescence après une maladie de 3 mois et demi. Il n'a pas eu, depuis, de nouvel accident staphylococcique.

En résumé, au cours d'une septicémie à staphylocoques à manifestations successivement urinaire, orchitique, articulaire, l'injection de sérum a amené une sédation très nette des symptômes généraux et locaux. La thérapeutique par l'anatoxine, suivie de violentes réactions focales et générales, semble avoir limité l'extension des manifestations staphylococciques. La septicémie staphylococcique d'allure très sévère semble avoir cédé sous l'influence de la thérapeutique spécifique. Elle s'est terminée par une collection périnéphrétique.

Depuis 5 mois la guérison complète se maintient.

De l'ensemble de cette expérience thérapeutique se dégage une efficacité certaine de la méthode. Une surveillance clinique prolongée nous permet de penser que la guérison est fréquente et qu'elle est durable dans bien des cas. A l'heure actuelle, la thérapeutique à l'anatoxine mérite d'être tentée chaque fois qu'on se trouve en présence d'une infection *sérieuse* due au staphylocoque.

La vivacité de certaines réactions locales et générales, un cas indubitable de mort provoquée par la thérapeutique, ont soulevé des doutes légitimes sur l'innocuité de la méthode. En réalité, nous sommes persuadé que tout accident peut, et doit, être évité si on ne recourt à la thérapeutique que dans des conditions bien déterminées, en s'entourant de précautions indispensables.

Les premiers auteurs qui expérimentèrent certains « toxoïds » ont observé des réactions générales, souvent très vives. Tous ceux qui ont utilisé les anatoxines actuelles signalent des incidents d'importance et fréquence non négligeables. Ainsi, MM. G. Ramon et ses collaborateurs, dans leur expérimentation de 1935, notent dans 90 % des cas une réaction générale. MM. Tzanck, Louis Hervé, Nélis, insistent sur les réactions locales et focales. Il semble cepen-

dant que les incidents sont moins fréquents avec les anatoxines actuelles qu'avec les premiers vaccins utilisés.

La nature de l'affection traitée n'entre pas en ligne de compte ; les accidents apparaissent essentiellement comme des réactions individuelles imprévisibles « *à priori* ».

Réactions générales.

Dans les premières minutes, nous avons noté le malaise, les vertiges, l'agitation passagère.

Dans les 24 heures qui suivent, une poussée fébrile est assez fréquente, atteignant jusqu'à 40°, mais sans symtômes alarmants.

D'autre fois, il n'y a pas de fièvre, mais une sensation de lassitude intense.

Réactions locales.

Elles se montrent fréquentes, mais toujours sans gravité. En général elles sont réduites à un placard érythémateux de la taille d'une paume de main, passager ou persistant quelques jours. La douleur est souvent assez vive.

Dans un cas, l'injection de 1/10 cc. d'anatoxine a déclenché une réaction locale très violente, d'allure phlegmoneuse, diffuse. Cet incident a rétrocédé en quelques jours.

Chez certains sujets les réactions sont assez importantes pour commander la cessation du traitement.

Réactions focales.

Elles sont moins fréquentes que les réactions locales et générales. Très souvent, par exemple, l'injection est suivie

d'une réactivation des furoncles avec élimination du bourbillon, ou bien, du réveil d'un furoncle éteint depuis plusieurs semaines.

Les réactions focales peuvent être signalées par le malade lui-même, comme chez un de nos malades atteint de pyonéphrose, qui souffrait de son rein quelques heures après l'injection.

Nous interprétons comme réaction focale l'apparition d'épistaxis après l'injection chez un malade atteint de furoncle du nez.

Une seule fois la réaction focale a pris un caractère inquiétant. Il s'agissait d'un sujet atteint de sinusite grave frontale et maxillaire. Voulant soumettre le patient à la thérapeutique par l'anatoxine, nous l'avions préalablement éprouvé par l'injection intradermique de 1/10 cc. d'anatoxine ; dans les deux heures qui ont suivi sont apparues : une céphalée extrêmement violente, des douleurs atroces au niveau des foyers purulents en même temps que s'exagérait l'écoulement de pus. Ces accidents réellement impressionnants ont été passagers. Quelques jours après, au niveau d'une injection d'essence de thérébentine qui n'avait pas produit l'abcès de fixation escompté, s'est produit une collection suppurée à staphylocoques.

En somme, les incidents observés au cours de l'anatoxithérapie, n'ont pas, dans notre pratique, dépassé le cadre des réactions souvent observées dans beaucoup de thérapeutiques anti-infectieuses.

Mais nous croyons avoir évité beaucoup d'accidents plus sérieux grâce à la précaution essentielle de toujours tâter auparavant la tolérance du malade par l'injection d'une très petite dose d'anatoxine.

On sait, cependant, que des accidents sérieux ont été signalés à la suite de la vaccination : anémie aplastique, (Touraine), néphrite (Tzanck). Ils relèvent, sans aucun

doute, de la thérapeutique. C'est également à l'introduction d'anatoxine dans l'organisme que doit être attribué le cas de mort relaté par Duvoir et ses élèves.

Rappelons en quelques mots les circonstances de cet accident : Huit heures après l'injection de 1/2 cc. d'anatoxine destiné au traitement d'une hydrosadénite discrète de l'aisselle, une femme de 51 ans a succombé de collapsus cardiovasculaire. L'autopsie n'a révélé aucune cause antérieure de méiopragie viscérale, mais des hémorragies des surrénales.

On ne peut donner à cet accident d'autre explication que celle proposée par les auteurs et unanimement acceptée. Il n'est pas douteux que le produit injecté ne contenait plus trace de toxine, mais bien de l'anatoxine, absolument dépourvue de toute propriété toxigène, soumise à de multiples épreuves de contrôle. (Les ampoules du même lot ont d'ailleurs été injectées sans provoquer aucun incident.)

C'est la sensibilité particulière de la malade aux protides émanés du corps microbien que l'on doit accuser ici. Nous savons, d'ailleurs, que des mélanges neutres de toxine et d'antitoxine peuvent, exceptionnellement, provoquer des accidents, quand on les injecte au lapin.

Nous voyons se reproduire, mais avec un caractère de fréquence et de gravité plus marqué, les accidents déjà observés avec l'anatoxine diphtérique (hématurie, anurie, néphrite, purpura).

Comme le fait remarquer M. R. Debré, il y a une sorte de gradation dans la fréquence des réactions provoquées par l'anatoxine tétanique, diphtérique, staphylococcique. Nulles avec la première, rares et en général bénignes avec la seconde, elles deviennent assez fréquentes et parfois très graves avec l'anatoxine staphylococcique. Ces réactions sont assez parallèles à l'acquisition de l'immunité naturelle contre ces diverses maladies. L'homme ne s'immunise pas

contre le tétanos et n'est pas sensible vis-à-vis des produits élaborés par le bacille de Nicolaier. Par contre, un assez grand nombre de sujets, en même temps qu'ils acquièrent une immunité antidiphtérique assez solide, deviennent sensibles aux protides contenus dans le bacille de Klebs-Loëffler. Et presque tous les sujets vivant en rapport constant avec le staphylocoque, acquièrent de ce fait, une sensibilité plus ou moins grande, mais extrêmement fréquente vis-à-vis des protides de ce germe.

Ces incidents, ces accidents, le cas de mort rapporté par M. Duvoir, ne doivent pas, pensons-nous, restreindre l'emploi de l'anatoxine chaque fois que l'application *en est légitime*. Mais ils engagent seulement à redoubler de prudence, car rien ne peut faire prévoir la susceptibilité du sujet.

Aussi, nous nous sommes soumis, très tôt, dans notre pratique, à une règle absolue (et tous les auteurs qui, chacun de leur côté, ont expérimenté la thérapeutique, l'ont adoptée également) : *Toujours pratiquer une injection intradermique préalable de 1/10 cc. d'anatoxine et se baser sur les réactions produites dans les 24 heures.*

Si elles sont vives : réaction locale importante, et signes généraux, mieux vaut refuser au malade le bénéfice éventuel de la thérapeutique que de lui faire courir un risque, peut-être grave.

Si les réactions sont légères (macule, légère papule, pas de fièvre), on peut alors commencer la série habituelle des injections.

*
* *

Au point de vue posologique, nous avons retenu, comme la plus pratique et la plus efficace, la série d'injections à 8 jours d'intervalle de 0,25, 0,50, 1,2 cc. d'anatoxine.

Ce sont là les doses courantes pour la thérapeutique des

staphylococcies cutanées. Si, en cours de traitement, les réactions locales ont été un peu vives, il y a avantage à ne pas augmenter les doses ultérieures et à faire, au besoin, une injection supplémentaire, de façon à obtenir au total une dose voisine de 4 à 5 cc.

Pour juger utilement des résultats de l'immunisation, il est nécessaire de pratiquer un dosage de l'antitoxine spécifique avant la première injection et quelques jours après la dernière. A la rigueur, le dosage terminal seul peut être fait ; on peut, en effet, admettre, dans l'immense majorité des cas, qu'avant toute thérapeutique à l'anatoxine le titre antitoxique du sérum est faible.

A plusieurs reprises, il nous est arrivé de prolonger le traitement par une injection de rappel de 1 au 2 cc. ou de pratiquer, à un intervalle éloigné, une nouvelle série d'injections.

Outre l'injection préalable d'une petite dose d'anatoxine, en vue d'éprouver la sensibilité du sujet, rappelons la nécessité de pratiquer, comme avant toute vaccination, un examen général du sujet, pour dépister une tare organique grave (cardiopathie décompensée, albuminurie). Nous avons connaissance d'un accident mortel, survenu chez un vieillard cardiorénal atteint de parotidite staphylococcique traité d'emblée par une injection de 1/2 cc. d'anatoxine.

*
* *

Si, dans l'ensemble, les auteurs qui se sont intéressés, pendant ces dernières années, à l'anatoxine staphylococcique, signalent les bons résultats de la méthode, tous ne sont pas d'accord sur le caractère spécifique de cette thérapeutique.

On sait que l'injection d'anatoxine modifie toujours la réaction humorale du sujet. Sous l'influence de la vacci-

nation le titre antitoxique du sérum s'élève. L'augmentation du titre peut être plus ou moins précoce, plus ou moins marquée ; mais elle est toujours nette. Ajoutons que la réaction paraît durable et que, dans deux cas seulement, nous l'avons vu s'affaiblir entre le 7e et le 9e mois.

Quel rapport trouve-t-on entre la valeur antitoxique du sérum des sujets traités et les résultats cliniques de la thérapeutique ?

Dans l'ensemble, il est indéniable que *les cas de guérison coïncident avec une haute teneur de sérum en antitoxine.*

Il suffit de jeter un coup d'œil sur le tableau donnant le résumé des dosages dans la thérapeutique des staphylococcies cutanées pour se rendre compte que le sérum des sujets guéris contient 10, 20, parfois 40 unités par cc. ; alors que le taux initial moyen est de l'ordre de 1 à 2 unités antitoxiques.

Mais, ajoutons de suite, que cette règle n'est pas absolue.

Quelques sujets réagissent remarquablement à l'injection d'anatoxine sans que l'évolution clinique soit en rien modifiée ; d'autres, n'élèvent que très peu leur taux d'antitoxine sous l'influence de la vaccination et sont, cependant, améliorés. Il arrive même qu'aucune modification sérologique ne se produise, malgré l'injection de fortes doses d'anatoxine, et que le sujet guérisse.

Forts de ces constatations, certains pensent que l'action de l'anatoxine n'est pas rigoureusement spécifique et que l'introduction de protéines microbiennes dans l'organisme n'est pas étrangère aux succès thérapeutiques. C'est ainsi que M. A. Tzanck écrit « la production d'antitoxines sous l'influence de l'anatoxine nous semble, peut-être, plus un témoin de la vaccinothérapie que la preuve de la constitution d'une immunité ».

Certes nous avons en mémoire plusieurs exemples du rôle

de cette protéinothérapie. Nous avons, comme beaucoup d'autres, observé des exemples de « guérison dès la première injection ». Nous pensons aussi que certaines résolutions brillantes de foyers ostéomyélitiques graves ne doivent pas être attribuées à la thérapeutique staphylococcique, quand la guérison est survenue avant toute élévation du titre antitoxique. Nous n'avons tenu aucun compte de ces cas en rapportant les résultats de notre expérience thérapeutique.

Il serait inadmissible, croyons-nous, de ne voir le problème que sous cet angle très particulier, puisque, répétons-le, il y a coïncidence dans une très large mesure entre les guérisons observées et la montée progressive, puis la stabilité à un taux élevé de l'antitoxine du sérum.

Cette opinion est renforcée par l'étude que nous avons faite de la réaction de déviation du complément au cours des staphylococcies traitées par l'anatoxine. La vaccinothérapie peut faire apparaître la sensibilisatrice spécifique dans le sérum des sujets infectés qui en étaient auparavant dépourvus.

Nous nous sommes assuré, par ailleurs, que la vaccination par l'anatoxine et la sérothérapie procurent à l'animal d'expérience une résistance et même une protection complète vis-à-vis de l'infection microbienne.

Après expérimentation de la thérapeutique spécifique dans la maladie humaine, nous concluons :

Que l'anatoxine constitue à l'heure actuelle le meilleur agent thérapeutique des staphylococcies cutanées. Elle en assure la guérison dans environ 70 % des cas. L'action de la vaccination apparaît incomplète dans les manifestations rénales et défavorable dans les ostéomyélites.

La thérapeutique simultanée par le sérum et l'anatoxine a permis la guérison de staphylococcémies très sévères pour lesquelles le pronostic clinique apparaissait fatal.

Appuyant notre expérimentation sur des dosages humoraux de l'antitoxine spécifique, nous notons que, dans l'ensemble, la guérison coïncide, à quelques exceptions près, avec une haute teneur du sérum en antitoxine.

L'injection d'anatoxine peut, par suite d'une sensibilisation préalable du sujet aux « produits staphylococciques » entraîner des accidents et des incidents. Pour y remédier on ne peut se dispenser d'une injection d'épreuve d'une très petite dose d'anatoxine car les réactions individuelles sont imprévisibles.

Dans l'ensemble, nous pensons que l'action de la thérapeutique est spécifique, à part quelques exceptions pour lesquelles aucune explication valable ne peut être actuellement apportée et qui ne suffisent pas pour infirmer le rôle capital de l'immunité antitoxique dans la guérison de la maladie staphylococcique.

Conclusions

Ce travail résume une série de recherches cliniques, bactériologiques, immunologiques sur la toxine staphylococcique et la thérapeutique des staphylococcies par l'anatoxine et le sérum antitoxique.

1. — Nous nous sommes attaché à rechercher les meilleures conditions de production de l'exotoxine. Seuls des essais multiples permettent de retenir une souche toxigène car rien ne peut faire prévoir *a priori* les qualités d'un germe. Nous avons utilisé avec profit le milieu déjà employé pour la production de la toxine diphtérique, en insistant sur l'importance d'une culture en atmosphère de CO^2.

2. — Pour toutes les toxines produites nous avons vérifié les qualités essentielles déjà décrites, *pouvoir hémolytique, dermo-nécrotique, léthal.* Ces qualités marchent de pair pour une toxine donnée, mais sont éminemment variables suivant les échantillons étudiés.

Elles s'atténuent ou disparaissent parallèlement quand on fait agir sur la toxine divers agents physiques ou chimiques.

Les propriétés hémolytiques et nécrotiques ne paraissent que les manifestations particulières d'un même « principe lytique » contenu dans la toxine. Il est probable que toutes les cellules de l'organisme peuvent être altérées par la

toxine staphylococcique ; la cellule nerveuse est particulièrement sensible.

3. — L'action combinée du formol et de la chaleur transforme la toxine en un corps nouveau : *l'anatoxine staphylococcique* qui jouit de toutes les propriétés des anatoxines. L'anatoxine en particulier, a perdu tout pouvoir toxique et gardé presque intact le pouvoir antigène de la toxine qui lui a donné naissance.

4. — L'injection au cheval de toxine ou d'anatoxine staphylococcique fait apparaître dans le sérum des « antitoxines » spécifiques. On peut préparer ainsi un sérum antitoxique staphylococcique qui neutralise *in vitro*, proportionnellement, parallèlement, simultanément les propriétés de la toxine staphylococcique.

5. — Le phénomène de floculation, tel qu'il a été décrit par M. G. Ramon en 1922, à propos de la diphtérie, se retrouve, avec tous ses caractères, dans les mélanges en proportions convenables de toxine (ou d'anatoxine) et de sérum staphylococciques.

Ici, comme pour la diphtérie, l'apparition du phénomène de floculation initiale se fait dans le mélange où toxine et antitoxine se sont mutuellement saturées ; d'où un procédé de titrage extrêmement précis d'une toxine ou d'un sérum.

En somme, une première série de recherches nous a renseigné sur la production et les propriétés de la toxine, la préparation du sérum et de l'anatoxine.

*
* *

Munis de l'un et de l'autre de ces produits, non seulement parfaitement contrôlés, mais encore *rigoureusement titrés en unités définies*, nous avons entrepris une *étude de la thérapeutique*.

Nos recherches cliniques portent sur un nombre relativement restreint de malades (120). Nous pensons qu'en matière de staphylococcie, mieux vaut suivre *pendant très longtemps* quelques malades, que tirer des conclusions d'une statistique disparate. Dans une affection aussi difficile à juger que la staphylococcie, la « qualité » de la guérison, intervient autant et même plus, que la « quantité » de succès thérapeutiques immédiats.

1° Dans les staphylococcies cutanées, nous estimons à 70 % le pourcentage des guérisons définitives et stables après traitement par l'anatoxine.

2° Par contre, l'action de l'anatoxine nous paraît nulle dans l'ostéomyélite confirmée. Le sérum mérite d'être essayé à la phase initiale de l'ostéomyélite. Sans influencer l'évolution ultérieure des accidents osseux, la sérothérapie modifie heureusement l'état général pendant les premiers jours de la maladie.

3° Des observations de guérisons de septicémies après sérothérapie et vaccination ont été rapportés. Nous-mêmes en apportons des exemples. Malgré ces résultats encourageants, nous ne croyons pas que le pronostic grave des septicémies à staphylocoques ait été, dans l'ensemble et jusqu'ici, modifié sensiblement par les nouvelles thérapeutiques.

4° La thérapeutique par l'anatoxine mérite d'être essayée devant toute affection *sérieuse* relevant du staphylocoque.

Il faut être prévenu de la possibilité d'accidents géné-

raux, locaux, focaux, qui peuvent être ennuyeux, sévères et même mortels.

Ces accidents, qui relèvent d'une sensibilisation individuelle et imprévisible *a priori*, vis-à-vis des protides microbiennes ne peuvent être évités qu'en *recourant systématiquement à l'injection intradermique de* 1/10 *cc. d'anatoxine*. Si cette petite dose entraîne des réactions importantes, mieux vaut ne pas recourir à l'anatoxithérapie.

5° Nous croyons que le principe de la guérison réside, souvent, dans une immunité antitoxique. Les injections d'anatoxine produisent une élévation du pouvoir antitoxique du sérum. Il y a parallélisme, dans une assez large mesure, entre la qualité de la guérison et l'acquisition d'une immunité humorale antitoxique.

D'ailleurs des recherches expérimentales nous ont montré que, dans des circonstances définies, on pouvait protéger un animal contre l'inoculation du microbe, à dose mortelle, à condition de lui conférer auparavant l'immunité passive par le sérum, ou active par l'anatoxine.

*
* *

Il apparaît donc, que le germe staphylococcique doit son pouvoir pathogène à deux propriétés principales : la virulence, propriété de se multiplier et de produire des dégâts locaux ; la toxicité, propriété de secréter un poison diffusible bien défini dans ses propriétés fondamentales.

Il apparaît d'autre part que la guérison de la maladie staphylococcique humaine et expérimentale peut être assurée par la vaccination purement antitoxique.

Ces notions ont permis à M. G. Ramon d'établir un parallèle biologique entre la maladie staphylococcique et la diphtérie.

Le rôle de la toxine est, en effet, important et ressort d'un certain nombre de recherches.

1° L'immunité antitoxique latente, occulte, est extrêmement fréquente chez l'homme et différentes espèces animales. Mais nous n'avons pu vérifier que la maladie staphylococcique ancienne ou récente, bénigne ou grave, aiguë ou chronique, modifiât de façon appréciable l'immunité antitoxique humorale.

2° Au cours des maladies staphylococciques, nous avons remarqué que la réaction de déviation du complément existe fréquemment, mais essentiellement vis-à-vis de l'antigène *toxique*. De plus, l'injection d'anatoxine fait apparaître dans le sérum des sensibilisatrices, non seulement vis-à-vis de l'antigène toxique mais encore de l'antigène microbien.

Par les caractères précédents, la staphylococcie se conduit comme les maladies à élément toxique dominant, telle la diphtérie.

Nous croyons, cependant, qu'une théorie donnant à la toxine le rôle unique dans la maladie, et à l'immunité antitoxique le rôle essentiel dans la guérison, est, à l'heure actuelle, prématurée. Elle se heurte non seulement à des exceptions sur lesquelles nous avons insisté (guérisons sans modification du titre antitoxique ; aggravation malgré une très grande teneur en antitoxines du sérum). Elle est en opposition avec ce que nous apprend la clinique. La staphylococcie reste avant tout une maladie « microbienne » caractérisée par sa tendance à la généralisation, à la diffusion du microbe, qui crée des foyers à distance. Il y a dans les affections à staphylocoque à compter avec une altération des tissus et parenchymes par la pullulation du germe lui-même.

Ces réserves ne suffisent pas à ébranler la conception actuelle de l'immunité staphylococcique. Mais elles donnent à penser que des facteurs non déterminés jouent, à côté de

l'immunité humorale, un rôle dans la maladie et sa guérison.

Rappelons, d'ailleurs, que les tests cutanés à la toxine staphylococcique nous ont montré la complexité des réactions individuelles vis-à-vis des sécrétions du staphylocoque.

Vu : *Le Doyen,*
G. ROUSSY.

Vu : *Le Président de la Thèse,*
Robert DEBRÉ.

Vu et Permis d'Imprimer :
Le Recteur de l'Académie de Paris,
S. CHARLÉTY.

BIBLIOGRAPHIE

1. AJO (C.). — Sur la valeur de la réaction de déviation du complément pour l'étude des anticorps staphylococciques et des anticorps normaux en général. *C. R. S. B.*, 1936, T. CXXII, 16 mai 1936, p. 276.

2. BAIL (O.) et WEIL (Ed.). — Kurze Mitteilung bettrefeud die Agressivitat der staphylokokken. *Wien. Klin. Woch.*, T. XIX, 1er mars 1906, p. 235.

3. BAIL (O.) et WEIL (Ed.). — Ueber die Beziehungen von Kaninchenleukozyten sum Staphylokokkengift. *Wien. Klin. Woch.*, T. XIX, 5 juillet 1906, p. 389.

4. BIGGER (J.-W.). — The production of staphylococcal haemolysin with observations on its mode of action. *J. Path. end Bact.*, 1933, T. XXXVI, p. 87.

5. BIGGER (J.), BOLAND (C.-R.) and O'MEARA (R.-A.). — A new method of preparing staphylococcal heamolysin. *J. Path. and Bact.*, 1927, T. XXX, p. 271.

6. BIRCH-HIRSCHFELD. — Ueber die Wirksamkeit der Extracte von auf Zellophanagar gezuchteten staphylokokken. *Zeitschr. f. Immunitatsforschung u. exper. Therap.*, 1934, T. LXXXI, p. 260.

7. BLAIR (J.-E.) et HALMAN (F.-A.). — Staphylococcal antihaemolysin in Osteomyelitis and other St. Infections. *Proc. Soc. Exp. Biol.*, 1935, T. XXXIII, p. 382.

8. BLAIR (J.-E.) et HALMAN (F.-A.). — St. antihaemolysin. — Titers following st. toxoïd in chronic Osteomyelitis. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, 1936, T. XXX, p. 637.

9. BLOCH-LARROQUE (A.). et GRUPPER. — Ostéomyélite du maxillaire supérieur chez un nourrisson. Traitement par l'anatoxine staphylococcique. *S. M. H. P.*, 13 mars 1936, p. 455.

10. BOCAGE (A.) et MERCIER (P.). — Traitement de staphylococcies cutanées par l'anatoxine spécifique et son contrôle sérologique. *C. R. Société française de Dermato et syphiligraphie*, 6 juin 1935. — *Analyse in Rev. Fr. Dermat. vénéréol.*, N° 11, nov. 1935, p. 545.

11. BOCAGE (A.) et MERCIER (P.). — Innocuité de l'anatoxine staphylococcique et formule des vaccines. *C. R. S. B.*, 11 juillet 1936, T. CXXII, p. 1.270.

12. BOCAGE (A.) et MERCIER (P.). — L'intradermoréaction à la toxine St. chez l'homme. *C. R. S. B.*, 1936, T. CXXI, p. 937 et *Bull. Soc. Franç. Derm. et Syph.*, 1936, n° 8, p. 1.578.

13. BONNET (H.) et NÉLIS (P.). — Action de la toxine staphylococcique injectée dans le canal rachidien chez le lapin. *C. R. S. B.*, 1er déembre 1934, T. CXVII, p. 866.

14. BONNET (H.) et THIEFFRY (S.). — Production de la toxine staphylococcique. *C. R. S. B.*, 16 mars 1935, T. CXVIII, 1935, p. 1.062.

15. BONNET (H.), THIEFFRY (S.) et MONTEFIORE (C.). — Réaction de fixation du complément dans les infections staphylococciques. *C. R. S. B.*, 14 décembre 1935, T. CXX, année 1935, p. 1.058.

16. BONNET (H.), THIEFFRY (S.) et MONTEFIORE (C.). — Action du sérum antistaphylococcique dans l'infection staphylococcique expérimentale du lapin. *C. R. S. B.*, 1936, T. CXXII, 4 juillet 1936, p. 1.004.

17. BORTHWICK (G.-R.). — Experimental observations on the toxic effects of staphylococcal filtrates introduced enterally in laboratory animals. *Brit. Journ. Exp. Path.*, T. XIV, août 1933, p. 236.

18. BRYCE (L.-M.) et BURNET (F.-M.). — Natural immunity to staphylococcal toxin. *J. of Path. and Bact.*, Vol. XXXV, Prt I, 1932, N° 2, p. 183.

19. BURKY (E.-L.). — Studies on cultures and broth filtrates of staphylococci. I, II, III. *Journ. of Immuni.*, T. XXIV, 1933, pp. 93, 115, 127.

20. BURKY (E.-L.). — Studies on culture and broth filtrates of staphylococci IV. Antitoxin content of rabbit serums immune to staphylococcal toxin and the precipitin reactions of such serums. *Journ. of Immuni.*, T. XXV, novembre 1933, p. 419.

21. BURNET (F.-M.). — The exotoxins of staphylococcus pyogenes aureus. *J. Path. and Bact.*, 1929, T. XXXII, p. 717.

22. BURNET (F.-M.). — The production of staphylococcal toxin. *J. Path. and Bact.*, 1930, T. XXXIII, p. 1.

23. BURNET (F.-M.). — The interactions of staphylococcus toxin, anatoxin and antitoxin. *Journ. Path. and Bact.*, 1931, T. XXXIV, p. 471.

24. BURNET (F.-M.). — The floculation reaction with staphylococcal toxin. *Journ. Path. and Bact.*, 1931, T. XXXIV, p. 752.

25. BURNET (F.-M.) and KELLAWAY (C.-H.). — Recent works on St. toxins with special reference to interpretation of Bundaberg fatalities. *Med. Journ. of Austr.*, 1930, n° 2, p. 295.

26. BURNET (F.-M.) and FREEMAN (M.). — The process of formol detoxication ; experimented with purified sta-

phylococcal toxin. *Journ. Path. and Bact.*, T. XXXV, 1932, p. 477.

27. CARLINFANTI (E.). — Présence d'antitoxine staphylococcique d'origine naturelle et réaction dermique aux antigènes staphylococciques chez le cobaye. *C. R. S. B.*, 1935, 7 décembre, T. CXX, p. 942.

28. CARLINFANTI (E.). — Les anticorps déviant le complément en présence d'antigènes staphylococciques (toxine, anatoxine, germe) chez les animaux normaux et immunisés. *C. R. S. B.*, 14 décembre 1935, T. CXX, p. 1.055.

29. CAROLI (J.) et BONS (J.). — Septicémie staphylococcique guérie par le sérum et l'anatoxine staphylococciques. *S. M. H. P.*, 18 octobre 1935, p. 1.397.

30. CELAREK (J.) et FEGGIN (Mlle B.). — Au sujet de la vaccinothérapie staphylococcique en connexion avec la staphylotoxine. *C. R. S. B., Soc. Biol.*, Varsovie, 5 février 1935, T. CXXII, N° 16, p. 137.

31. CELAREK (J). et FEGGIN (Mlle B.). — Sur le rapport entre la staphylotoxine et les toxines des anaérobies de la gangrène gazeuse. *C. R. S. B., Soc. Biol. de Varsovie*, séance du 5 février 1936, T. CXXII, N° 16, p. 133.

32. CHIALE (G.-F.). — Fenomeni immunitari nelle stafilomicosi cutane. *Giorn. Ital. di Dermat. e Sifil.*, 1934, N° 4, p. 1.497.

33. COMBIESCO (D.), ISTRATI (G.) et COMBIESCO (N.). — Recherches sur l'exotoxine staphylococcique. *C. R. S. B.*, 1933, T. CXIV, p. 292, *Soc. Biol. de Bucarest*, Séance du 15 juin.

34. COMBIESCO (D.), ISTRATI (G.) et COMBIESCO (N.). — Sur les propriétés antihémolytiques et antinécrotiques d'un sérum antistaphylococcique préparé chez le cheval. *C. R. S. B.*, 1935, T. CXIX, p. 626. *Soc. Biol. de Bucarest*, 4 avril 1935.

35. COMBIESCO (D.), ISTRATI (G.), POP (A.), COMBIESCO (N.) et ILIESCO (M.). — Action du sérum antistaphylococcique dans l'infection staphylococcique expérimentale chez le lapin. *Soc. de Biol. de Bucarest*, 21 nov. 1935 in *C. R. S. B.*, T. CXXI, N° 2, p. 177.

36. COMBIESCO (D.) et POPESCO (C.). — Données expérimentales sur le traitement spécifique des septicémies staphylococciques. *Bull. Ac. Méd. Roumanie*, 1936, T. I, N° 3, p. 394.

37. CONNOR (J.-I.). — Sta. Infection of the skin and their treatment. *The British Med. Journ.*, N° 3.911, 21 déc. 1935, p. 1.195.

38. CONNOR (J.-I.) and MACKEE (M.). — A study of the antihaemolytic titre of man and animals following staphylococcal infections. *Journ. Path. and Bact.*, 1933, T. XXXVII, p. 363.

39. CONNOR (J.-I.) and MACKEE (M.). — Treatment of superficial staphylococcal infection by toxoid. *Brit. Journ. Dermat.*, T. XLVI, 1934, p. 28.

40. CORPENING (A.) et FOXHALL (E.-P.). — Outbreak of food poisoning probably due to staphylococcal aureus. *Am. Journ. of Public Health*, T. XXV, août 1935, p. 938.

41. COURMONT (J.). — Etude sur les substances solubles prédisposant à l'action pathogène de leurs microbes producteurs. *Revue de Médecine*, 1891, p. 843.

42. CRABTREE (J.-A.) and LITTERER (W.). — Outbreak of milk poisoning due to a toxin-producing staphylococcus found in the udders of the cow. *Am. Journ. of Public Health*, T. XXIV, novembre 1934, p. 1.116.

43. CROSNIER (R.). — Traitement de la staphylococcie. Etude d'ensemble. Etude critique. Essai de pathogénie. *Revue de Médecine*, N° 3, mars 1936, p. 148.

44. DARANYI (J.-J.). — Pathogenität und Emteilung der staphylokokken. (Pouvoir pathogène et classification des staphylocoques.) *Centralblatt f. Bakt.*, T. CXIX, 1926, p. 74.

45. DEBRÉ (R.), LÉVY (P.-P.), BONNET (H.) et CHALARD (L.). — L'anatoxine staphylococcique, son emploi dans un cas de staphylococcémie grave à foyers multiples terminée par la guérison. *S. M. H. P.*, 22 juillet 1935, N° 25, p. 1.334.

46. DEBRÉ (R.), BONNET (H.) et THIEFFRY (S.). — L'anatoxine staphylococcique, son emploi dans le traitement des staphylococcies. *Paris Médical*, 26 juin 1936, N° 23, p. 494.

47. DENYS (J.) et VAN DE VELDE (H.). — Sur la production d'une antileucocidine chez les lapins vaccinés contre le staphylocoque pyogène. *La Cellule*. T. XI, 1895, pp. 357-372.

48. DESCAZEAUX (J.) et RICHOU (R.). — Recherches sur l'immunité antistaphylococcique naturellement acquise chez différentes espèces animales. *Bull. Ac. Vétér. France*, 1935, T. VIII, n° 7.

49. DJOURICHITCH (M.). — Sur la présence de staphylocoques toxigènes et d'antitoxine staphylococcique chez le cobaye neuf. *C. R. S. B.*, 13 juin 1936, T. CXXII, p. 609.

50. DJOURICHITCH (M.). — La réaction locale provoquée par l'inoculation du staphylocoque chez le cobaye neuf et le cobaye vacciné au moyen de l'anatoxine staphylococcique. *C. R. S. B.*, 11 juillet 1936, T. CXXII, p. 1.168.

51. DOLMAN (C.-E.). — Pathogenic and antigenic properties of staphylococcus. *Canadian Public Health Journ.*, mars 1932, p. 125.

52. DOLMAN (C.-E.). — The relationship between the haemo-

lytic and toxigenic properties of staphylococcus cultures. *Trans. Roy. Soc. Can.*, 1932, T. XXVI, p. 309.

53. DOLMAN (C.-E.). — Treatment of localised staphylococcic infection with staphylococcus toxoid. *Journ. Am. Med. Ass.*, 1933, T. C, p. 1.007.

54. DOLMAN (C.-E.). — Ingestion of staphylococcus exotoxin by human volunteers with special reference to staphylococci food poisoning. *Journ. Inf. Dis.*, T. LV, sept.-oct. 1934, p. 172.

55. DOLMAN (C.-E.). — Clinical uses of staphylococcus toxoid. *The Lancet*, N° 5.815, 9 fév. 1935, pp. 306-313.

56. DOLMAN (C.-E.) et KITCHING (J.-S.). — Test for innocuity and antigenic potency of staphylococcus toxoid. *Journ. Path. and Bact.*, T. XLI, juillet 1935, p. 137.

57. DUDGEON (L.-S.) et BAMFORTH (J.). — On staphylococcal precipitin reactions in cases of acute and chronic infections and also in serum siskness. *Journ. of Hyg.*, T. XXIII, avril 1925, p. 375.

58. DUMAS (M.-J.). — Etude sur les staphylocoques dorés. Parallèle entre divers staphylocoques dorés d'origine humaine et animale. *Ann. I. P.*, 1914, T. XXVIII, p. 213.

59. DUVOIR, POLLET, BOULEY et HUGUET (Mlle). — Collapsus mortel au cours d'un traitement par l'anatoxine staphylococcique. *S. M. H. P.*, 28 février 1936, p. 345.

60. EICHHORN (E.) et RICHOU (R.). — Recherches expérimentales sur les « vaccinations associées » (antitétanique et antistaphylococcique). *C. R. S. B.*, 25 janvier 1936, T. CXXI, p. 309.

61. FAMULENER (L.-W.). — A report of immunisation curves derived from goats treated with certain hemolytic bac-

terial toxins. *Centralbl. f. Boht.*, T. XLIV, 23 mai 1907, pp. 58-70.

62. FORSSMAN (J.). — Studien ueber das staphylolysen. *Biochem. Zeit.*, 1933, T. CCLXV, p. 291.

63. FORSSMAN (J.). — Staphylostudien II. *Acta patho et Microb. Scand.*, T. XI, 1934, p. 214.

64. FORSSMAN (J.). — Recherches sur la staphylolysine. *Soc. Danoise de Biologie*, 1er octobre 1934 in *C. R. S. B.*, 1934, T. CXVII, p. 639.

65. FORSSMAN (J.). — Staphylostudien III. *Acta Path. et Microb. Scand.*, T. XI, N° 4, 1934, p. 462.

66. FORSSMAN (J.). — Studies in Staphylococci. IV Staphylococcus Immunity. *Acta Path. et Microb. Scand.*, T. XII, 1935, p. 530.

67. FRAENKEL (C.) et BAUMANN. — Ueber hämolysinbildung und agglutination der staphylokokken. *Munch. Med. Woch., T. LII*, 16 mai 1906, p. 937.

68. GATÉ (J.), CUILLERET et CHANIAL (G.). — L'anatoxine staphylococcique (à propos de 18 cas traités dans le service de Dermato-syphiligraphie de l'Antiquaille. *J. de Méd. de Lyon*, N° 393, 20 mai 1936, p. 381.

69. GENGOU (O.). — Contribution à l'étude des poisons élaborés par les staphylocoques. *Arch. Int. de Méd. Exp.*, 1930, pp. 633-639.

70. GENGOU (O.). — Signification des substances toxiques élaborées par les staphylocoques et conditions favorables à leur production. *Arch. Int. de Méd. Exp.*, Vol. VI, fasc. 2, 10 janvier 1931, p. 213.

71. GENGOU (O.). — Contribution à l'étude de la lyse des cellules sanguines par la staphylotoxine. *Ann. de l'I. P.*, janv. 1932, Tome XLVIII, p. 19.

72. GENGOU (O.). — Contribution à l'étude des antigènes et des anticorps staphylococciques. *Ann. de l'I. P.*, février 1932, T. XLVIII, p. 135.

73. GENGOU (O.). — Contribution à l'étude de l'action du staphylocoque sur le plasma oxalaté et sur le fibrinogène. *Ann. I. P.*, juillet 1933, T. LI, p. 14.

74. GENGOU (O.). — Influence de la composition du milieu de culture sur les propriétés de la toxine staphylococcique. *Arch. Int. de Méd. Exp.*, 1935, T. 2, p. 415.

75. GENGOU (O.). — Acides aminés et toxine staphylococcique. *Ann. I. P.*, août 1935, T. LV, N° 2, p. 129.

76. GLENNY (A.-T.) et STEVENS (M.-F.). — Staphylococcus toxins and antitoxins. *Journ. of Path. and Bact.*, T. XL, N° 2, mars 1935, p. 201.

77. GROSS (H.). — Ueber Bildung und Nachwas des Staphylokokkentoxins. *Zeitschr. f. Hyg. u. Infekt.*, 1929, T. CIX, p. 479.

78. GROSS (H.). — Ueber Herstellung und Auswertung des staphylokokken serums. *Klin. Woch.*, 1929, T. VIII, p. 1.079.

79. GROSS (H.). — Die hämolysine und Nekrosegifte des Staphylokokken, Streptokokken und Colibazillen. *Centralbl. f. Bakt*, T. CXV, 1930, p. 367.

80. GROSS (H.). — Die Kulturfiltratstoffe der Staphylokokken und deren Beziehungen zueinander. *Zeits. f. Immunitatsforschung und exper. Ther.*, 1931, T. LVXXIII, p. 14.

81. GROSS (H.). — Der Plasmagerinnungsstoff der Staphylokokken (substance coagulante du S.). *Centralbl. f. Bakt.*, T. CXXII, 1931, p. 359.

82. GROSS (H.). — Das Filtrathämolysin der Staphylokokken. *Centralbl. f. Bakt.*, T. CXXIII, 1931, p. 212.

83. GROSS (H.). — Die Kulturfiltratstoffe der staphylokokken und deren Beziehung Zweinander. (Subst. des filtrats et rapports entre elles). *Zeitschr. f. Immunitatsf.*, T. LXXIII, 19 décembre 1931, p. 14.

84. GROSS (H.). — Die Wertbestimmungsmethoden des Antitoxischen Staphylokokken serums. *Zeitschr. f. Immunitatsf.*, T. LXXIX, 10 mai 1933, p. 163.

85. GROSS (H.). — Ueber die Brauchbarkeit und der Diagnostichen Wert der Antistaphylolysinreaktion. *Klin. Woch.*, T. XII, 10 juin 1933, p. 907.

86. GROSS (H.). — Die Experimentellen Grundlagen einer Serumthérapie der Osteomyelitis. *Klin. Woch.*, T. XII, 30 décembre 1933, p. 1.990.

87. HARTLEY (P.) et LLEWELLYN-SMITH (Margaret). — Etalon international proposé pour le sérum antistaphylococcique. *Bulletin Trimestriel de l'Organisation d'Hygiène de la S. D. N.*, Numéro spécial, janvier 1935, p. 67.

88. HARTLEY (P.) et LLEWELLYN-SMITH (Margaret). — Memorandum sur un étalon stable provisoire de sérum antistaphylococcique. *Bulletin trimestriel de l'Organisation d'Hygiène de la S. D. N.*, Numéro spécial, janvier 1935, p. 110.

89. HERMANN (M.). — De l'influence de quelques variations de terrain organique sur l'action des microbes pyogènes. *Ann. I. P.*, 1891, p. 243.

90. HOKE (Edmund). — Ueber die agressive und immunisatorische Wirkung vor staphylokokken exsudaten. *Zeitschr. f. Hyg.*, T. L, f. 3, 20 juin 1905, p. 541.

91. JAMIESON (W.-A.) et POWELL (H.-M.). — The Immunology of Staphylococcus Toxin. *Am. Journ. of Hyg.*, T. XXIX, janvier 1934, p. 246.

92. JAUBERT et GOY. — Vaccinothérapie staphylococcique. — Importance du métabolisme microbien. *Pr. Méd.*, N° 56, 14 juillet 1928.

93. JORDAN (E.-O.) et BROOM (J.-M.). — Results of feeding staphylococcus filtrates to Monkeys. *Proc. Soc. Exp. Biology and Med.*, T. XXIX, novembre 1931, p. 161.

94. JULIANELLE (L.-A.) et WIEGHARD (C.-W.). — The Immunilogical specificity of Staphylococci. *Journ. Exp. Med.*, 1935, T. LXII, n° 1, pp. 11, 23, 31.

95. JULIANELLE (L.-A.). — Studies of Hemolytic staphylococci (Hemolytic activity, Biochemical reactions, serologic reactions). *Journ. of Inf. Dis.*, T. XXXI, sept. 1922, p. 256.

96. KINDEL (D.-J.) et COSTELLO (M.-J.). — Staphylococcus toxoid in the treatment of pustular dermatoses. *Journ. Am. Med. Asso.*, 1934, T. CII, p. 1.287.

97. KLEINSCHMIDT (H.). — Fibrinbildende und auflösende Wirkung von staphylokokken (Staphylokinase und staphylofibrolysine). *Zeitschr. f. Immunitatsforsch I Orig.*, T. III, 28 sept. 1909, pp. 516-524.

98. KOBAK (J.) et PILOT (J.). — Skin reactivity of mothers and infants to St. aureus filtrate and vaccine. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, 1931, T. XXVIII, p. 584.

99. KRAUS (R.) et PRIBRAM (E.). — Ueber Staphylokokken toxin und dessen antitoxin. *Wien. Klin. Woch.*, T. XIX, 5 et 26 avril 1906, pp. 408-493.

100. KUTSCHER et KONRICH (Fr.). — Untersuchungen die Beziehungen von Hämolysinbildung und Aggluttinabilität der staphylokokken. *Zeitschr. f. Hyg.*, T. XLVIII, 30 septembre 1904, p. 249.

101. LANDSTEINER (K.) et Von RAUCHENBICHLER (R.). — Ueber di Verhalten des staphylolysins. *Zeitschr. f. Im-*

munitätsforsch I Orig., T. I, 10 février 1909, pp. 439-448.

102. LE FÈVRE DE ARRIC. — Action de la staphylotoxine sur le lapin. Influence de l'âge des animaux. *C. R. S. B.*, T. LXXXII, 13 décembre 1919, p. 1.313.

103. LE FÈVRE DE ARRIC. — Action des Colloïdes métalliques sur la staphylotoxine et la staphylolysine. *C. R. S. B.*, T. LXXXII, 20 décembre 1919, p. 1.331.

104. LÉONARD (G.) et HOLM (A.). — A method for the production of staphylococcal toxin and toxoid. *Journ. of Immunol.*, T. XXIX, sept. 1935, p. 209.

105. LESIEUR (J.). — Contribution à l'étude du traitement des staphylococcies cutanées par l'anatoxine. *Thèse Paris*, 1936.

106. LEVEUF (J.). — A propos de l'anatoxine staphylococcique. *Bull. Ac. Chir.*, T. LXII, N° 2, 22 janvier 1936, p. 45.

107. LUCCIONI (F.) et BLANCHARD (J.). — Sur l'action de l'anatoxine staphylococcique dans un cas de staphylococcémie à forme grave. *Comité Méd. des B.-du-Rhône*, mai 1936, *Anal. in P. M.*, 19 sept. 1936, N° 76, p. 1.473.

108. BURNEY (R. Mac). — Food poisoning due to staphylococci. Report of an outbreak. *Journ. Amer. Med. Ass.*, T. C, 1933, p. 1.999.

109. MAGENDIE et VILLAR. — Ostéomyélite aiguë traitée par l'anatoxine staphylococcique de Ramon. *Soc. de Chirurgie de Bordeaux.* 12 décembre 1935 *in P. M.*, 26 janvier 1936, N° 17, p. 330.

110. MAJOR (R.-H.). — The production of kidney lesions with staphylococcal aureus toxins. *Journ. of Med. Research*, T. XXXV, janvier 1917, p. 349.

111. MANOUELIAN (Y.). — Recherches sur l'athérome aortique. *Ann. I. P.*, T. XXVII, p. 12, janvier 1913.

112. MAYEDA (Tomosuke). — Ueber die Vacinfestigkeit der Staphylokokken und ihre Beziehung zum staphylolysine. *Centralblatt f. Bakt.*, T. LXXXVIII, p. 222, 1922.

113. MERKLEN (P.), WAITZ (R.) et PERNOT (J.). — Staphylococcémie grave. Injection d'anatoxine. Transfusion. Guérison. *B. S. M. H. P.*, 13 mars 1936, p. 459.

114. MONDOR (H.). — Septicémie à staphylocoque après avortement provoqué. *Ac. de Chirurgie*, séance du 12 février 1936, N° 5, T. LXII, p. 158.

115. MURRAY (D.-S.). — La Toxoïde staphylococcique. Essai clinique. *The Lancet*, n° 5.815, 9 février 1935, pp. 303-306.

116. NAIDU (P.-M.-N.). — Zur Hämolyse der Staphylokokken in Schaftblutagar platten. (Action hémolytique des staphylocoques sur la gelose au sang de mouton). *Centralbl. f. Bakt. I*, T. CXXXII, juillet 1934, p. 47.

117. NEISSER (M.) et WECHSBERG. — Ueber das Staphylotoxin. *Zeit. f. Hyg. u. Infekt.*, 1909, T. XXXVI, p. 299.

118. NÉLIS (P.). — Contribution à l'étude de la toxine staphylococcique. *C. R. S. B.*, T. CXIII, 6 mai 1933, p. 7.

119. NÉLIS (P.). — Action cardiaque de la toxine staphylococcique. *C. R. S. B.*, 1933, T. CXIII, p. 1.321.

120. NÉLIS (P.). — Action de certains corps chimiques sur la toxine staphylococcique. *C. R. S. B.*, 28 oct. 1933, T. CXIV, p. 598.

121. NÉLIS (P.). — Action du sérum antistaphylococcique sur les paralysies. *C. R. S. B.*, 19 janvier 1935, T. CXVIII, N° 3, p. 212.

122. NÉLIS (P.). — Infection expérimentale et immunité antitoxique staphylococcique. *C. R. S. B.*, T. CXVIII, 1935, N° 14, p. 1.384.

123. NÉLIS (P.). — L'immunité antitoxique staphylococcique (Etude préliminaire). *Rev. d'Immunologie*, T. I, n° 2, mars 1935, p. 152.

124. NÉLIS (P.). — Une nouvelle thérapeutique des staphylococcies : la vaccinothérapie par l'anastaphylotoxine. *P.-M.*, 17 juillet 1935, n° 57, p. 1.141.

125. NÉLIS (P.). — Nouveau milieu de culture pour la production de la toxine staphylococcique. *C. R. S. B.*, T. CXXI, 22 février 1936, p. 724.

126. NÉLIS (P.). — Sur l'existence d'une paratoxine staphylococcique. *C. R. S. B.*, T. CXXI, 29 février 1936, p. 808.

127. NÉLIS (P.) et BONNET (H.). — Mécanisme d'action de la toxine staphylococcique injectée dans le canal rachidien (région sous-occipitale) du lapin. *C. R. S. B.*, 12 janvier 1935, T. CXVIII, n° 2, p. 136.

128. NÉLIS (P.) et BOUCKAERT (J.-J.). — Action cardiaque de la toxine staphylococcique chez le lapin et chez le chien. *C. R. S. B.*, 8 juillet 1933, T. CXIII, p. 1.157.

129. NÉLIS (P.) (avec la collaboration de J.-J. BOUCKAERT et E. PICARD). — Contribution à l'étude de la toxine staphylococcique. *Ann. de l'I. P.*, T. LII, 1934, n° 6, p. 597.

130. NÉLIS (P.) et PICARD (E.). — Contribution à l'étude de la toxine staphylococcique. Etude anatomo-pathologique des lésions aiguës provoquées par ce poison. *C. R. S. B.*, 22 juillet 1933, T. CXIII, p. 1.321.

131. NÉLIS (P.) et PICARD (E.). — Sur la toxicité de certains mélanges neutres toxine-antitoxine staphylococcique. *C. R. S. B.*, 9 novembre 1935, T. CXX, p. 610.

132. NÉLIS (P.) et PIÉRARD (J.). — Essais de traitement de la furonculose au moyen de l'anastaphylotoxine. *Revue Belge des Sc. Médicales*, T. VI, 1934, p. 257.

133. NÉLIS (P.) et PONCELET. — L'antitoxine staphylococcique naturelle chez l'homme. *C. R. S. B.*, T. CXVIII, 1935, p. 312.

134. NÉLIS (P.) et WEERDT (W. de). — L'influence de la toxine staphylococcique sur la formule sanguine du lapin. *C. R. S. B.*, 1935, 26 octobre, T. CXX, p. 394.

135. NICOLLE (M.) et CÉSARI (E.). — Toxicité de divers échantillons. Vue d'ensemble sur les staphylocoques dorés. *Ann. I. P.*, 1914, T. XXVIII, p. 219.

136. OPPENHEIM (H.). — Zur Darstellung des Staphylohämotoxins. *Centralblatt f. Bakt.*, T. LIX, 24 juin 1911, pp. 188-192.

137. ORCUTT (M.-L.) et HOWE (P.-E.). — Hemolytic action of a staphylococcus due to a fat-splitting enzyme. *Journ. of Exp. Méd.*, T. XXXV, 1er avril 1922, p. 409.

138. OTTO (R.). — Weitere Beitrage zur Agglutination der Staphylokokken. *Centralblatt f. Bakt.*, n° 1, 30 mai 1903, pp. 44-48.

139. PAGNIEZ (P.), PLICHET (A.) et RENDU (C.). — Staphylococcémie grave traitée et guérie par l'anatoxine. *S. M. H. P.*, 16 octobre 1936, p. 1.318.

140. PANTON (P.-W.) et VALENTINE (F.-C.-O.). — Staphylococcal toxin. *The Lancet*, 5 mars 1932, p. 506.

141. PANTON (P.-N.), VALENTINE (F.-C.-O.) et DIX (V.-W.). — Staphylococcal infection and antitoxin treatment. *The Lancet*, 1931, T. CCXXI, p. 1.181.

142. PARISH (H.-J.) et CLARK (W.-M.-H.). — Staphylococcal toxin and antitoxin. *Journ. of Path. and Bact.*, T. XXXV, mars 1932, p. 251.

143. PARKER (J.). — The production of an exotoxin by certain strains of staphylococcal aureus. *Journ. Exp. Med.*, T. XI, n° 6, décembre 1924, p. 761.

144. PARKER (J.-T.) et BANZHAF (E.-J.). — Production of staphyloccus antitoxin in horses. *Journ. of Immunology*, T. XIII, janvier 1927, p. 25.

145. PARKER (J.-T.), WEED et GUNTHER (A.). — Differenciation between certain toxic properties of filtrates of hemolytic staphylococcus aureus. *Journ. Exp. Med.*, T. 54, septembre 1931, p. 315.

146. PIKE (R.-M.). — The depression of phagocytosis by products of staphylococci. *Journ. of Immunology*, T. XXVI, 1934, p. 69.

147. PILOT (I.) et AFREMOW (M.-L.). — Studies of staphylococcal filtrates. Demonstration of an exotoxin by skin tests in man an its neutralisation by antitoxic serum. *Journ. Am. Med. Assoc.*, T. LXXXIX, n° 12, p. 939, 17 sept. 1927.

148. POPESCO (C.). — Du pouvoir empêchant des plaquettes sanguines sur la staphylolysine. *Soc. Roumaine de Biol.*, 19 avril 1923, in *C. R. S. B.*, T. LXXXIX, p. 259.

149. PRIBRAM (E.). — Ueber Bakterienhämotoxin (lysine) und Antihämotoxine Handbuch der Pathogenen Mikroorganismen, VII, 291 [W. Kolle und A. Wassermann]. Ed. *G. Fischer*, Iéna, 1906.

150. PROSCHER. — Ueber Antistaphylokokkenserum. *Deutsche Med. Woch.*, n° 11, 12 mars 1903, pp. 195-196.

151. PROSCHER. — Ueber die künstliche Immunitat gegen staphylokokken. (Immunité artificielle vis-à-vis du staphylocoque). *Centralblatt f. Bakt. I Origin*, T. XXXIV, n° 5, 22 août 1903, pp. 437-445.

152. RAMON (G.). — Sur la production de la toxine et de l'anatoxine staphylococcique. *C. R. S. B.*, T. CXXI, n° 5, 1er février 1936, p. 375.

153. RAMON (G.). — Sur l'immunité antitoxique naturellement

acquise. Son existence, son mécanisme. *Revue d'immunologie*, T. II, n° 4, juillet 1936, p. 305.

154. RAMON (G.), BONNET (H.), NÉLIS (P.) et RICHOU (R.). — Sur la production du sérum antistaphylococcique. *C. R. S. B.*, 4 juillet 1936, T. CXXII, p. 1.002.

155. RAMON (G.), BOCAGE (A.), RICHOU (R.) et MERCIER (P.). — L'anatoxine staphylococcique et son emploi dans le traitement spécifique de certaines affections dues au staphylocoque. Résultats. *P. M.*, 17 juillet 1935, n° 57, p. 1.137.

156. RAMON (G.), BOCAGE (A.), MERCIER (P.) et RICHOU (R.). — L'anatoxine staphylococcique et son emploi dans le traitement des affections dues au staphylocoque. Nouveaux résultats. *P. M.*, 1er février 1936, n° 10, p. 185.

157. RAMON (G.), BOCAGE (A.), MERCIER (P.) et RICHOU (R.). — Sur l'immunité antistaphylococcique provoquée par l'anatoxine staphylococcique chez les malades atteints d'affections dues au staphylocoque. Etude expérimentale et théorique. Renseignements pratiques. *P. M.*, 19 février 1936, n° 15, p. 281.

158. RAMON (G.), BONNET (H.), NÉLIS (P.), RICHOU (R.) et THIEFFRY (S.). — Sur une méthode d'évaluation du pouvoir antigène de la toxine staphylococcique par la floculation spécifique. *C. R. S. B.*, 22 juin 1935, T. CXIX, p. 790.

159. RAMON (G.), DJOURICHITCH (M.) et RICHOU (M.). — Du rôle de l'infection staphylococcique et de la contagion dans l'acquisition de l'immunité antitoxique spécifique. Démonstration expérimentale. *C. R. S. B.*, 13 juin 1936, T. CXXII, p. 611.

160. RAMON (G.), DJOURICHITCH (M.) et RICHOU (R.). — Sur l'immunité antistaphylococcique provoquée par l'anatoxine et par différents antigènes vis-à-vis de l'infection

expérimentale par le staphylocoque. *C. R. S. B.*, 11 juillet 1936, T. CXXII, p. 1.160.

161. RAMON (G.), ERBER (B.) et RICHOU (R.). — Sur la présence simultanée d'antitoxine diphtérique et d'antitoxine staphylococcique d'origine naturelle chez le singe. *C. R. S. B.*, T. CXXI, n° 4, 25 janvier 1936, p. 285.

162. RAMON (G.) et NÉLIS (P.). — Immunisation expérimentale au moyen de l'anastaphylotoxine. *C. R. S. B.*, T. CXVI, 1934, p. 1.250.

163. RAMON (G.), NÉLIS (P.) et RICHOU (R.). — Production de l'immunité chez le lapin au moyen d'instillations de toxine staphylococcique dans le sac conjonctival : nature de cette immunité. *C. R. S. B.*, T. CXVIII, 1935, p. 738.

164. RAMON (G.), NÉLIS (P.) et RICHOU (R.). — Sur la neutralité du mélange floculant toxine-antitoxine staphylococcique. *C. R. S. B.*, T. CXIX, 1935, 20 juillet, p. 1.306.

165. RAMON (G.) et RICHOU (R.). — Du pouvoir antigène de la toxine et de l'anatoxine staphylococcique ; sa résistance à la chaleur. *C. R. S. B.*, 19 octobre 1935, T. CXX, p. 290.

166. RAMON (G.) et RICHOU (R.). — Sur le dosage de la toxine staphylococcique. *C. R. S. B.*, T. CXXI, n° 5, 1er février 1936, p. 379.

167. RAMON (G.) et RICHOU (R.). — Sur le contrôle de l'innocuité et sur le dosage de l'anatoxine staphylococcique. *C. R. S. B.*, T. CXXI, 8 février 1936, p. 517.

168. RAMON (G.) et RICHOU (R.). — L'antitoxine staphylococcique d'origine naturelle chez le cobaye et chez le lapin suivant leur provenance, leur habitat, leur race : conséquences théoriques et pratiques. *C. R. S. B.*, T. CXXI, 1936, n° 7, 15 février 1936, p. 621.

169. RAMON (G.) et RICHOU (R.). — Réactions de certains lapins

à des mélanges neutres de toxine et d'antitoxine staphylococcique, phénomènes d'hyper-sensibilité naturellement acquise ? *C.R.S.B.*, T. CXXI, n° 11, 14 mars 1936, p. 1.064.

170. RAMON (G.), RICHOU (R.) et DESCAZEAUX (J.). — L'antitoxine staphylococcique d'origine naturelle chez l'homme et chez différentes espèces animales. *Revue d'Immunologie*, septembre 1935, n° 5, p. 401.

171. RAMON (G.), RICHOU (R.) et DJOURICHITCH (M.). — Sur l'influence des conditions de vie dans l'acquisition de l'immunité antistaphylococcique chez le cobaye. *C. R. S. B.*, 25 avril 1936, T. CXXI, p. 1.559.

172. RAMON (G.), RICHOU (R.) et DJOURICHITCH (M.). — Nouvelles recherches sur l'immunité antistaphylococcique naturellement acquise chez le cobaye. *C. R. S. B.*, 13 juin 1936, T. CXXII, p. 606.

173. RAMON (G.), RICHOU (R.) et DJOURICHITCH (M.). — Sur l'immunité antistaphylococcique naturelle chez le lapin et le cobaye. Etude expérimentale. *Revue d'Immunologie*, T. II, n° 4, juillet 1936, p. 375.

174. RAMON (G.), RICHOU (R.) et DJOURICHITCH (M.). — Sur le mécanisme de l'immunité conférée par l'anatoxine à l'égard de l'infection par le staphylocoque virulent. Démonstration expérimentale. *C. R. S. B.*, 11 juillet 1936, T. CXXII, p. 1.164.

175. RAMON (G.), RICHOU (R.), NICOL (L.) et LUPU (A.). — Etude comparée de diverses immunités antitoxiques (diphtérie, staphylo. Preisz Nocard, etc...) d'origine naturelle chez le cheval. *C. R. S. B.*, T. CXXI, 1936, n° 6, 8 février 1936, p. 521.

176. REMÉ (G.). — Ueber Hautreaktionen mit staphylokokken kulturfiltraten. Ein Beitrag zur Frage der Dicksen reaktion. (Réactions cutanées au filtrat de culture de staphy-

locoque. Contribution au problème de la réaction de Dick.) *Zeitschr. f. Immunitätsf und Exp. Ther.*, T. LXIX, 8 décembre 1930, p. 25.

177. RODET (A.) et COURMONT (J.). — Etude sur les produits solubles favorisants sécrétés par le staphylocoque pyogène. *C. R. S. B.*, 21 mars 1891, T. XLIII, p. 192.

178. RUSS (W.-K.). — Die toxine und antitoxine der pyogenen staphylokokken. *Zeitschr. f. Exp. Path. u. Ther.*, T. LXXX, 2 juillet 1916, p. 220.

179. SALMON. — Ostéomyélite aiguë du péroné avec hémoculture positive traitée par l'anatoxine staphylococcique. *Soc. de Chir. de Marseille*, janvier 1936, in *P.-M.*, n° 19, 4 mars 1936, p. 367.

180. SASSIER. — Guérison d'un cas d'ostéomyélite mandibulaire grave par l'anatoxine staphylococcique. *Soc. de Stomatologie de Paris*, 8 février 1936. [Analyse in *P.-M.*, n° 19, p. 369.]

181. SAUVÉ (L.). — L'anatoxine staphylococcique en chirurgie. *A. C. Chirurgie*, T. 62, n° 2, 22 janvier 1936, p. 45.

182. SCHWARTZ (J.).— Variations du PH dans les milieux de culture destinés à la production de la toxine staphylococcique. *C. R. S. B.*, 14 décembre 1935, T. CXX, p. 1.085.

183. SCHWARTZ (J.). — Action de l'huile d'œillette et de l'huile cholestérinée sur la toxine staphylococcique. *C. R. S. B.*, 4 juillet 1936, T. CXXII, p. 1.006.

184. SEIFFERT (W.). — *Das Staphylotoxin Centralbl. f. Bakt. I. Orig.*, 1935, T. CXXXV, p. 99.

185. SHAUGHNESSY (H.-J.) et GRUBB (T.-C.). — Staphylococcus food poisoning. Report of a small milk born épidemic. *The Journ. of Infectious diseases*, mai-juin 1936, vol. 58, n° 3, p. 318.

186. SMITH (M.-L.). — The essay of antigens with special references to Sta. Toxoid. *Journ. Path. a. Bact.*, 1936, T. XLII, p. 227.

187. SOUPAULT et BERNARDINI. — Un cas de septicémie à staphylocoque traité et guéri par l'anatoxine staphylococcique. *Bul. Ac. Chir.*, 1936, p. 162, séance du 12 février 1936, T. LXII, n° 5.

188. STEVENS (F.-A.). — The occurence of staphylococcus aureus infection with scarlatiniform rash. *Journ. am. Med. Assoc.*, T. LXXXVIII, 18 juin 1927.

189. STOOKEY (P.-F.) et SCARPELINO (L.-A.). — Dermonecrotic properties of staphylococcus filtrates. *South. Med. Journ.*, T. XXCIII, février 1935, p. 188.

190. SUDHUES (M.). — Beitrag zum Plasmagerrinungphänmen bei staphylokokken krankhungen. *Zeitschr. f. Immunitatsf.*, T. LXXX, 24 septembre 1933, p. 42.

191. TOURAINE (A.), RENAUT (P.) et BOYER (P.). — Anémie pernicieuse aplastique après vaccination à l'anatoxine staphylococcique. *Soc. fr. de Derm. et de Syphil.*, 13 février 1936, Bull. n° 2, pp. 366-372.

192. TRAVASSOS (J.). — Sur l'action de la toxine staphylococcique inoculée directement dans le cerveau du cobaye et du lapin. *C. R. S. B.*, 1933, T. CXIV, n° 30, p. 369.

193. TRAVASSOS (J.). — Sur une nouvelle méthode de dosage de l'antitoxine staphylococcique. *Soc. de Biologie de Sao-Paulo*, 8 juin 1935, in *C. R. S. B.*, 1933, T. CXIV, p. 371.

194. TRAVASSOS (J.). — Pouvoir antigénique et propriétés de l'anatoxine staphylococcique. *C. R. S. B.*, T. CXVII, p. 717 ; *Mem. de l'Inst. Butantan. Sao-Paulo Bresil*, déc. 1934.

195. TZANCK (A.), CARLINFANTI et KLOTZ (H.-P.). — Réactions

observées au cours du traitement des staphylococcies cutanées par l'anatoxine. *C. R. Soc. de Derm. et Syphil.*, 9 janvier 1936, n° 1, p. 96.

196. TZANCK (A.), KLOTZ (H.-P.) et NEGREANU (Al.). — Contribution à l'étude du traitement des staphylococcies cutanées par l'anatoxine. Résultats. Accidents. Posologie. *S. M. H. P.*, 28 février 1936, n° 8, p. 352.

197. TZANCK (A.), KLOTZ (H.-P.) et NEGRÉANU (A.). — Etude comparée des résultats cliniques et sérologiques au cours du traitement des staphylococcies cutanées par l'anatoxine. *S. M. H. P.*, 28 février 1936, n° 8, p. 355.

198. TZANCK (A.), KLOTZ (H.-P.) et NEGRÉANU (A.). — A propos d'un cas de néphrite déclenchée par l'anatoxine staphylococcique. *S. M. H. P.*, 13 mars 1936, n° 10, p. 450.

199. URBAIN (A.). — Essais de vaccination du lapin contre le staphylocoque par voie cutanée et digestive. *C. R. S. B.*, T. XCI, n° 24, p. 341.

200. VAN DURME (P.) (Halle). — Ueber staphylokokken und staphylolysin. *Hyg. Rundschau*, T. XIII, 15 janvier 1903, pp. 66-68.

201. VERGE (J.) et THIEULIN (G.). — Le milieu électif d'Onufrio pour la culture du staphylocoque. *C. R. S. B.*, T. CXIV, 1930, p. 850.

202. WALBUM (L.-E.). — Action de la staphylosysine sur les globules de chèvre. *C. R. S. B.*, T. LXXXV, 1er décembre 1921, p. 205.

203. WALBUM (L.-E.). — Studien uber die Bildung der Bakteriellen toxin I Staphylolysin. *Biochem. Zeitschr.*, T. CXXIX, pp. 367-443, 3 mai 1922.

204. WEINBERG (M.) et NASTA (M.). — Rôle des hémolysines dans l'intoxication microbienne. *Ann. de l'I. P.*, octobre 1920, T. XXXIV, n° 10, p. 690.

205. WOOFPERT (O.-C.) et DACK (G.-M.). — Relation of gastro-intestinal poison to other toxic substances produced by staphylococci. *Journ. Inf. Dis.*, T. LII, janvier-février 1933, p. 6.

206. WHITBY (L.-E.-H.). — The treatment of Sta. skin lesions with toxoïd. *The Lancet*, 1936, p. 1.454.

207. YOSHIDA (H.). — Experimental demonstration of active immunity in cutaneous regions of rabbits to which coctigen had been previously applied. *Arch. f. Jap. Chir.*, 1935, T. XII, p. 1.312.

208. YOUREVITCH (V.). — Pigmentation du derme du lapin et repousse du poil consécutive aux injections intradermiques de filtrats bactériens. *C. R. S. B.*, 1935, T. I, n° 12, p. 1.145.

TABLE DES MATIÈRES

Pages

INTRODUCTION 1

APERÇU HISTORIQUE 5

PREMIÈRE PARTIE. — RECHERCHES EXPÉRIMENTALES SUR LA TOXINE, L'ANATOXINE ET LE SÉRUM STAPHYLOCOCCIQUES. 9

CHAPITRE PREMIER. — *Production de la toxine* 11

I) Recherche du milieu 11

II) Recherche de la souche toxigène 16

CHAPITRE II. — *Les propriétés de la toxine staphylococcique* 21

I) *Action cytologique* 22

1° Action sur les hématies 23

2° Action sur les hématoblastes 28

3° Action sur les leucocytes 29

II) *Pouvoir dermonécrotique* 31

III) *Effet de la toxine sur l'organisme des animaux de laboratoire* 34

1° Les symptômes de l'intoxication expérimentale. 35

2° Recherches sur l'action physiologique 40

3° Etude anatomopathologique des lésions 42

CHAPITRE III. — *Le sérum antitoxique staphylococcique.* 45

I) *Production d'un sérum* 45

II) *Propriétés antitoxiques expérimentales* 46

CHAPITRE IV. — *Existence du phénomène de floculation dans les mélanges de toxine et sérum* 49

CHAPITRE V. — *L'anatoxine staphylococcique* 55

CHAPITRE VI. — *Titrage de l'activité des toxines et sérums* 59

I) Détermination du pouvoir toxique 61

II) Détermination du pouvoir neutralisant 62

III) Détermination du pouvoir antigène 67

Pages

DEUXIÈME PARTIE. — Recherches expérimentales sur l'immunité antistaphylococcique et la pathogénie de la maladie staphylococcique 71

Chapitre premier. — *La toxicité envisagée du point de vue clinique* 75

Chapitre II. — *L'immunité antitoxique naturelle* 79

Chapitre III. — *La réaction de déviation du complément au cours des affections staphylococciques* .. 89

Chapitre IV. — *Intradermoréaction à la toxine* 97

TROISIÈME PARTIE. — Essais de thérapeutique par l'anatoxine et le sérum dans les maladies staphylococciques. Etude clinique et expérimentale 107

Chapitre premier. — *Essais d'immunisation active chez l'animal. Valeur de cette immunisation dans l'infection microbienne expérimentale* 109

Chapitre II. — *Action du sérum dans l'infection expérimentale du lapin* 117

Chapitre III. — *Essais de thérapeutique spécifique dans la maladie staphylococcique humaine* 135

I) Evolution des staphylococcies cutanées traitées par l'anatoxine 137

II) Evolution des infections rénales chroniques traitées par l'anatoxine 148

III) Evolution des ostéomyélites soumises à la thérapeutique spécifique 149

IV) Septicémies traitées par sérum et anatoxine .. 159

Réactions observées au cours du traitement 173

Résultats d'ensemble et discussion 177

Conclusions 181

Bibliographie 187

Imprimerie S. A. B. I. P., Blois.